Universidad de Oviedo

Departamento de Química Orgánica e Inorgánica

Programa de Doctorado: "Síntesis y Reactividad Química"

"Incorporación de cationes metálicos y n-octilamina en nanopartículas de Fosfato de Titanio y su posterior liberación en medio ácido"

Tesis Doctoral

JAVIER CARRASCO RODRÍGUEZ

Oviedo-2016

Incorporación de cationes metálicos y n-octilamina en nanopartículas de Fosfato de Titanio y su posterior liberación en medio ácido.

Javier Carrasco Rodríguez

DIRECTOR:

Francisco Javier García Alonso

Oviedo-2016

RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Incorporación de cationes metálicos y n-octilamina en nanopartículas de Fosfato de Titanio y su posterior liberación en medio ácido.	Inglés: Successive incorporation of metallic cations and n-octylamine into Titanium Phosphate nanoparticles and their subsequent release in acid media.

2.- Autor	
Nombre: JAVIER CARRASCO RODRÍGUEZ	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: SÍNTESIS Y REACTIVIDAD QUÍMICA	
Órgano responsable: QUÍMICA ORGÁNICA E INORGÁNICA	

RESUMEN (en español)

La presente Tesis doctoral se llevó a cabo dentro del marco de cooperación que mantiene nuestro grupo con el Profesor Agustín Costa García del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Oviedo. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar los procesos que se llevan a cabo con unas nanopartículas de fosfato de titanio (NPFT) para convertirlas en marcas de biosensores muy eficientes. (Las partículas constan de un núcleo cristalino de $NaTi_2(PO_4)_3$ y una corona amorfa de hidrógenofosfatos y dihidrógenofosfatos de titanio). Tales procesos consisten básicamente en cargar las NPFT con cationes metálicos M^{z+} ($M^{z+} = Cd^{2+}$, Hg^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}) y proteínas y finalmente liberar los iones M^{z+} en medio ácido para medir su concentración electroquímicamente.

En un primer paso se procedió a complementar la caracterización de las NPFT descritas en la bibliografía mediante RMN de P-31 en sólido, pues los datos ofrecidos eran incompletos. Durante la realización de las medidas de RMN se descubrió que las NPFT sufren un proceso general de hidrólisis tanto en estado sólido como en disolución generando ácido fosfórico, H_3PO_4. Este hecho parecía especialmente relevante por cuanto las NPFT incorporan iones M^{z+} por reacción de las nanopartículas con sales solubles de los cationes metálicos en medio acuoso.

Tras comprobar que la hidrólisis es extremadamente rápida en disolución se demostró que el proceso de hidrólisis se inhibe de una manera prácticamente completa

en presencia de los iones M^{z+}, y que las nanopartículas ya cargadas con los cationes metálicos no se hidrolizan de manera apreciable, por lo que la incorporación de iones M^{z+} a las NPFT se puede hacer en agua sin mayor problema.

Seguidamente se detectó que la cantidad de catión incorporado a NPFT se puede modular cambiando el anión de la sal metálica utilizada. Así, los acetilacetonatos introducen en las nanopartículas más iones M^{z+} que los acetatos y éstos, a su vez, más que los nitratos. Esto es coherente con la hipótesis de que el proceso de incorporación de M^{z+} a las NPFT consiste principalmente en la sustitución de protones por cationes. Sin embargo, tanto la caracterización de las nanopartículas cargadas con iones metálicos como el estudio del proceso inverso, la liberación de los cationes en medio ácido, indican claramente que las reacciones de incorporación y de liberación de los Mz+ son, en realidad, más complejas, y que, además, no revierten al producto de partida.

A continuación se estudió la interacción de las NPFT con la octilamina, tomada como modelo de las proteínas. Así, se descubrió que la interacción directa entre ambos es suficiente para incorporar la amina a las nanopartículas pues los fosfatos ácidos protonan la octilamina y esta queda retenida formando pares iónicos fosfato /octilamonio

Seguidamente se comprobó que la cantidad de amina incorporada a NPFT es inversamente proporcional a la cantidad de catión metálico introducido en la nanopartícula con anterioridad, lo que es lógico si se tiene en cuenta que en ambos procesos intervienen inicialmente los protones de los fosfatos ácidos de las NPFT. Finalmente se demostró que tanto la amina como el catión quedan liberados al poner en medio ácido las NPFT previamente cargadas con M^{z+} y octil-NH_2, si bien el proceso no es completo (queda algún ion retenido) ni reversible (no se obtienen los compuestos de partida).

Los productos obtenidos han sido caracterizados por Infrarrojo, Microscopia electrónica de trasmisión (incluyendo la Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X), Difracción de rayos X de polvo, RMN de sólido, y, eventualmente, por medidas de Luminiscencia y electroquímicas.

RESUMEN (en Inglés)

This Doctoral Thesis is part of a collaborative project among our group and the electrochemical group led by Prof. Dr. A. Costa in the Department of Analytical Chemistry in the Faculty of Chemistry at the University of Oviedo.

The main purpose of this work is the study of the processes carried out with certain Titanium Phosphate Nanoparticles (NPFT) to convert them into useful biosensors tags. The NPFT consists in a crystalline core, $NaTi_2(PO_4)_3$, and an amorphous shell formed by Titanium Hydrogen Phosphates and Dihydrogen Phosphates. The processes include the incorporation of metallic cations like Cd^{2+}, Hg^{2+}, Cu^{2+} and Ag^{+} (and proteins) into the Titanium Phosphate nanoparticles NPFT and their subsequent release in acidic media to measure their concentration electrochemically.

Initially the NPFT were fully characterized as far as its ^{31}P NMR spectrum was not completely explained in the literature. In this way it was discovered that the NPFT are easily hydrolyzed in water and even in solid state, generating H_3PO_4. This is a very important issue because the incorporation of the metallic cations is carried out in aqueous solution.

The hydrolysis reaction is extremely fast in water but, fortunately, it is inhibited in the presence of the metallic cations and the resulting nanoparticles (those containing M^{z+} ions) are stable in water. Therefore, the Titanium Phosphate nanoparticles could be charged with metallic ions without further complications.

Later, it was detected that the amount of metallic cation incorporated into the NPFT can be modulated with the nature of the metallic salt anion. Thus the acetylacetonates are able to introduce more cations into the Titanium Phosphate nanoparticles than the acetates and the later are more efficient than the nitrates. These facts are easily understood assuming that the incorporation of the metallic cations into the NPFT is basically a proton/cation interchange, namely that the acid phosphate protons are substituted by metallic ions inside the NPFT. However, the characterization of the nanoparticles charged with Cd^{2+}, Hg^{2+}, Cu^{2+} and Ag^{+} as well as the study of the metallic cations release in acid media evidence that both processes are actually more complex and that the reactions are not reversible, in such a way that the starting NPFT

could not be recovered.

Afterwards, it was studied the interaction between the NPFT and octylamine, considered as an appropriate model for the proteins. So it was found that the direct reaction between the octylamine and the Titanium Phosphate nanoparticles is sufficient to incorporate the amine into NPFT, since the acid phosphates transfer a proton to the amine and subsequently a phosphate/octylammonium ion pair is formed

When octylamine is incorporated into the NPFT containing metallic ions, it is observed that the amount of incorporated amine is inversely proportional to the amount of the present metallic ion. That is to be expected when the same protons are used for ion exchange or for octylamonium formation. Both octylamine and ionic cations M^{z+} are liberated upon treatment with acid solution, although the process is neither complete (some cations are retained) nor reversible (the starting material is not recovered)

The obtained products have been characterized by IR, TEM (including Energy Dispersive Spectrometry X-ray), X-ray diffraction powder, solid NMR, and eventually by Luminiscence and Electrochemical measurements.

SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN SÍNTESIS Y REACTIVIDAD QUÍMICA

Agradecimientos

Hay muchas personas a las que agradecer todos estos años de duro trabajo.

En primer lugar, a mi familia, a mis padres y a mi abuela Angelinos, por respaldarme siempre en todas mis decisiones así como por su constante motivación.

A Ceci, mi novia, por todo el apoyo incondicional y esperar con paciencia este momento.

A todos los compañeros de laboratorio de todos estos años.

A todas aquellas personas que intervinieron en este trabajo, principalmente a mi director de tesis, el catedrático Francisco Javier García Alonso, por su esfuerzo, dedicación y paciencia.

Al catedrático Agustín Costa García, por hacer posible este trabajo con su colaboración, y a Daniel Martín Yerga, del grupo de Nanobioanálisis del departamento de Química Física y Analítica de la Universidad de Oviedo, por toda su ayuda con las nanopartículas.

A Isabel Cancelo Beneítez, por ayudarme en la síntesis de las nanopartículas.

Al catedrático José Manuel Costa Fernández y a Mario Menéndez Miranda del grupo de Espectrometría Analítica del departamento de Química Física y Analítica de la Universidad de Oviedo, por su colaboración y ayuda en las medidas de fluorescencia de las nanopartículas y su interpretación.

A Zakariae Amghouz, por su ayuda en la interpretación de los datos obtenidos por MET.

A Juan Ramón de los Toyos González, por permitir el uso de la centrifugadora de alta velocidad perteneciente al grupo de investigación que dirige.

Sin todos ellos, este trabajo no hubiera sido posible.

Publicaciones

El trabajo experimental, teórico y bibliográfico desarrollado durante esta Tesis Doctoral, y la colaboración con el grupo de Nanobioanálisis del departamento de Química Física y Analítica de la Universidad de Oviedo, dirigido por el Catedrático A. Costa García, ha dado lugar a la presentación del siguiente artículo.

- D. Martín-Yerga, J. Carrasco-Rodríguez, M.B. González-García, F.J. García Alonso, A. Costa-García, *"Determination of Silver-Modified Titanium Phosphate Nanoparticles by Voltammetric and Electrocatalytic Methods"*, Electroanalysis, 26(12) (2014), 2574-2579.

Algunas publicaciones sobre el trabajo desarrollado en esta Tesis Doctoral y la colaboración con el grupo de investigación anteriormente nombrado, se encuentran actualmente en preparación.

- D. Martín-Yerga, J. Carrasco-Rodríguez, J.L. García-Fierro, F.J. García-Alonso, A. Costa-García. "Non.enzymatic electrochemical determination of glucose using copper-modified titanium phosphate nanoparticles"
- D. Martín-Yerga, J. Carrasco-Rodríguez, F.J. García-Alonso, A. Costa-García, "Multiplexing detection of celiac disease biomarkers using metal-modified titanium phosphate nanoparticles"

Comunicaciones en congresos:

Comunicaciones Orales:

- "Moculated ion exchange in Titanium Phosphate Nanoparticles and functionalization thereof" VII Workshop en Nanociencia y Nanotecnología Analíticas (NyNA). Salamanca (España). Julio 2015.

Comunicaciones Tipo Póster:

- "Moculated ion exchange in Titanium Phosphate Nanoparticles and functionalization thereof" VII Workshop en Nanociencia y Nanotecnología Analíticas (NyNA). Salamanca (España). Julio 2015.

Declaración

En este apartado se especifican las contribuciones experimentales a esta Tesis Doctoral que no se ha llevado a cabo. Esta Tesis Doctoral consiste completamente en mi trabajo exceptuando algunos experimentos/análisis que se han llevado a cabo en colaboración con otros investigadores:

- Las medidas de **RMN** han sido llevadas a cabo, en colaboración, por Dr. Leoncio Garrido del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (**CSIC**) de Madrid

- Las medidas electroquímicas de las concentraciones de metal en las Nanopartículas de Fosfato de Titanio han sido llevadas a cabo por Dr. Daniel Martín Yerga, integrante del grupo de investigación de Nanobioanálisis del departamento de Química Física y Analítica de la Universidad de Oviedo, dirigido por el catedrático A. Costa García.

- El Prof. J.L. García Fierro realizó el análisis **EFX** que se presenta en la figura 2.61 y la tabla 2.11.

ÍNDICE

1. Introducción ____ *1*

Objetivos: ____ 9

2. Discusión de Resultados ____ *11*

2.1. Nanopartículas de Fosfato de Titanio, NPFT. ____ *11*

2.1.1 Caracterización de las NPFT. ____ 11

2.1.2. Hidrólisis de las NPFT. ____ 21

2.2. Incorporación de cationes metálicos a las NPFT ____ *29*

2.2.1. Derivados de las NPFT con Cadmio. ____ 30

2.2.1.1. NPFT-Cd-1: ____ 33

2.2.1.2. NPFT-Cd-2 y NPFT-Cd-3: ____ 38

2.2.1.1. Derivados de las NPFT con cadmio: el problema de la hidrólisis simultánea. ____ 47

2.2.2. Derivados de las NPFT con Mercurio. ____ 52

2.2.3 Derivados de las NPFT con Cobre. ____ 60

2.2.3.1. Derivados de las NPFT con Cobre: NPFT-Cu-2 en medio básico. ____ 64

2.2.4. Derivados de las NPFT con Plata. ____ 70

2.3. Liberación de iones incorporados a NPFT. ____ *77*

2.3.1. Liberación de iones Cadmio. ____ 77

2.3.2. Liberación de iones Mercurio. ____ 84

2.4. Incorporación de compuestos aminados a NPFT. ____ *91*

2.4.1. Incorporación de n-Octilamina. ____ 96

2.4.2. Incorporación de Albúmina de Suero Bovino (ASB). ____ 101

2.5. Incorporación de compuestos aminados a NPFT modificadas previamente con metal. *105*

2.6. Tratamiento de NPFT cargadas con M^{+2} y amina con un medio ácido ____ 111

3. Parte Experimental ____ *117*

3.1.- Técnicas empleadas en la caracterización de compuestos. ____ 117

3.1.1.- Espectroscopía de Infrarrojo (IR). ____ 117

3.1.2.- Espectroscopía de RMN. ____ 117

3.1.3.- Difracción de Rayos X (DRX). ____ 118

3.1.4.- Microscopía Electrónica de Transmisión (MET). ____ 118

3.1.5.- Fluorescencia. ____ 118

3.1.6.- pH. ____ 118

3.2.- Preparación de las Nanopartículas ____ 119

- ***Preparación de NPFT.*** 119
- ***Preparación de NPFT-H.*** 120
- ***Preparación de NPFT-Cd-1-TA-1.*** 121
- ***Preparación de NPFT-Cd-1-TA-2.*** 122
- ***Preparación de NPFT-Cd-1.*** 123
- ***Preparación de NPFT-Cd-2.*** 123
- ***Preparación de NPFT-Cd-3.*** 124
- ***Preparación de NPFT-H-Cd.*** 125
- ***Preparación de NPFT-Hg-1.*** 126
- ***Preparación de NPFT-Hg-2.*** 127
- ***Preparación de NPFT-Cu-2.*** 127
- ***Preparación de NPFT-Cu-OH.*** 128
- ***Preparación de NPFT-Ag-1.*** 129
- ***Preparación de NPFT-Ag-2.*** 130
- ***Preparación de NPFT-Cd-2-HCl.*** 130
- ***Preparación de NPFT-Hg-2-HCl.*** 131
- ***Preparación de NPFT-OA-1.*** 132
- ***Preparación de NPFT-OA-2.*** 133
- ***Preparación de NPFT-OA-2-A.*** 133
- ***Preparación de NPFT-ASB-2.*** 134
- ***Preparación de NPFT-ASB-2-A.*** 134
- ***Preparación de NPFT-Cd-1-OA.*** 135
- ***Preparación de NPFT-Cd-1-OA-HCl.*** 136

4. Conclusiones ***137***

5. Bibliografía ***139***

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. 1. Estructura laminar de α-$Ti(HPO_4)_2.H_2O$ y γ-$Ti(H_2PO_4)(PO_4).2H_2O$.....3

Figura 1. 2. (fig. 1b de la referencia 1) Micrografía **MET** de las **NPFT**. 4

Figura 1.3. (Fragmento de la Fig. 2a de la referencia 1).Difractograma de las NPFT a 100ºC en la parte superior. En la parte inferior, difractograma de $NaTi_2(PO_4)_3$. 4

Figura 1.4. (Fig S2a de la referencia 1). Espectro de **RMN** P-31 (**PC-RAM**) de las **NPFT.**.....5

Figura 1. 5. (Fragmento de la Fig 3 de la referencia 1). Espectro de **RMN** H-1 (**RAM**) de las **NPFT**. 5

Figura 1. 6. Cetalización de la ciclohexanona y el 1,2 etanodiol catalizada por las **NPFT**. 6

Figura 1.7. Esquema de funcionalización de las nanopartículas con las proteínas. 7

Figura 1. 8. (Fragmento de figura 7 de la ref. 40): 8

Figura 1.9. (Fragmento de la figura 5b de la referencia 38). Espectro de luminiscencia (emisión) del $NaTi_2(PO_4)_3$ 8

Figura 2.1. Fórmula desarrollada del surfactante, docusato sódico..... 11

Figura 2.2. Micrografías **MET** de las **NPFT** (a) y su distribución de tamaño (b). 12

Figura 2.3. Difractograma de rayos X (y asignación de picos) de las **NPFT.**..... 13

Figura 2.4. Difractograma, y asignación de picos del $NaTi_2(PO_4)_3$, tomados de la referencia 45. 13

Figura 2.5. Comparación picos de difractograma de DRX de **NPFT** (arriba) y $NaTi_2(PO_4)_3$, JCPDS 33-1296 (abajo). 14

Figura 2.6. Difracción de electrones de **NPFT**. Los números indican la separación entre planos. 14

Figura 2.7. Espectro de **RMN** P-31 **TPC-RAM** de las **NPFT** (a) y figure S2a, tomada del material suplementario de la ref. 1 (b)..... 15

Figura 2.8. *Figura S2 b, tomada del material suplementario de la referencia 1 (a) Figura 2 A, tomada de la referencia 1 (b).* 16

Figura 2.9. Espectro de **RMN** de H-1 (s) de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT**. 17

Figura 2.10. Espectro de **RMN** de P-31 **RAM** en estado sólido con y sin desacoplamiento de protones de las **NPFT**. 18

Figura 2.11. Espectro **RMN** (P-31) **RAM** con desacoplamiento (verde oscuro) y **TPC-RAM** con desacoplamiento de protón y tiempo variable (negro: 0,2 ms; rojo: 1 ms; verde claro: 2 ms; azul: 4 ms). 19

Figura 2.12. Espectro de **IR** de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT**. 20

Figura 2.13. *Seguimiento del proceso de hidrólisis en estado sólido mediante **RMN** de P-31(s). Hidrólisis en estado sólido al cabo de una semana (a); hidrólisis al cabo de 4 meses (b).* 21

Figura 2.14. **RMN** de P-31(s) de las **NPFT** tras ser calentadas en agua a 50 °C, al cabo de 2 h (rojo) y de 24 h (en verde). 22

***Figura 2.15. RMN** de P-31 de la suspensión de **NPFT** en D_2O.* 23

Figura 2.16. Micrografía **MET** de las nanopartículas de fosfato de titanio suspendidas en agua durante 2 horas, **NPFT-H** (a), y su distribución de tamaño (b)..... 24

Figura 2.17. Espectro **IR** de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT** (a) y de las nanopartículas de fosfato de titanio suspendidas en agua durante 2 horas a 50 °C, **NPFT-H** (b). 26

Figura 2.18. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT** (a), y **NPFT** suspendidas en agua durante 2 horas, **NPFT-H** (b). 27

Figura 2.19. Comparación picos de difractograma de **DRX** de **NPFT-H** y $NaTi_2(PO_4)_3$ (JCPDS 33-1296). 27

Figura 2.20. Difracción de electrones de **NPFT-H**. 28

Figura 2.21. Micrografías **MET** de las nanopartículas funcionalizadas con nitrato de cadmio 10 mM y a 50 °C (a); 10 mM y temperatura ambiente (b) y 20 mM a temperatura ambiente (c) y su correspondientes distribuciones de tamaño..... 31

Figura 2.22. Difracción de electrones de las muestras preparadas a temperatura ambiente, y modificadas con nitrato de cadmio tetrahidratado, a) **NPFT-Cd-1-TA-1**; b) **NPFT-Cd-1-TA-2**. 32

Figura 2.23. *Espectros de **IR** de **NPFT-Cd-1** (a); **NPFT-Cd-1-TA-1** (b); **NPFT-Cd-1-TA-2** (c).*..... 32

Figura 2.24. Micrografías **MET** de **NPFT-Cd-1** y su distribución de tamaño. 33

Figura 2.25. Espectro **IR** de **NPFT** (a) y **NPFT-Cd-1** (b)..... 35

Figura 2.26. Espectros de **RMN** P-31 (s) de **NPFT** (a) y **NPFT-Cd-1** (b). 36

Figura 2.27. Difractogramas de Rayos X de **NPFT** (a) y **NPFT-Cd-1** (b)..... 36

Figura 2.28. (Ecuación 2.1). Esquema equilibrio protones-cationes en **NPFT**. 37

Figura 2.29. Micrografías **MET** de las nanopartículas funcionalizadas con sales de cadmio (II). Con $Cd(NO_3)_2.4H_2O$, (a) con $Cd(CH_3COO)_2.2H_2O$ (b) y $Cd(acac)_2$ (c) 38

Figura 2.30. Distribución de tamaños de las nanopartículas funcionalizadas con Cd^{2+}. **NPFT-Cd-1** (a) **NPFT-Cd-2** (b) y **NPFT-Cd-3** (c). 39

Figura 2.31. Espectros **IR** de las **NPFT** (a); y cargadas con Cd^{2+}, con nitrato, **NPFT-Cd-1** (b); acetato, **NPFT-Cd-2** (c) y acetilacetonato, **NPFT-Cd-3** (d). 41

Figura 2.32. Espectro de **IR** (650-500 cm^{-1}) de las **NPFT** (a) y de las mismas funcionalizadas con sales de cadmio. Nitrato, **NPFT-Cd-1** (b); acetato, **NPFT-Cd-2** (c); acetilacetonato, **NPFT-Cd-3** (d). 42

Figura 2.33. Espectros de **RMN** de P-31 (s) de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de cadmio. **NPFT** (incluido a efectos comparativos) (a), **NPFT-Cd-1** (b), **NPFT-Cd-2** (c), **NPFT-Cd-3** (d). 43

Figura 2.34. Difractograma de rayos X de **NPFT** y de las mismas funcionalizadas con sales de cadmio, con nitrato, **NPFT-Cd-1** (b), con acetato, **NPFT-Cd-2** (c) y con acetilacetonato, **NPFT-Cd-3** (d). 44

Figura 2.35. Difracción de electrones de las muestras cargadas con cadmio. Nitrato, **NPFT-Cd-1** (a), acetato, **NPFT-Cd-2** (b) y acetilacetonato, **NPFT-Cd-3** (c). 45

Figura 2.36. Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas funcionalizadas con sales de cadmio. 46

Figura 2.37. Porcentajes de las áreas de la señal a 720 nm en los espectros de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de cadmio..... 46

Figura 2.38. RMN P-31 del sobrenadante que resulta al calentar una disolución de 0,17 mmoles de nitrato de cadmio tetrahidratado en 17 mL de agua a la que se le han añadido 40 mg de **NPFT**, a 50 °C durante dos horas. 47

Figura 2.39. Micrografía **MET** de las nanopartículas de fosfato de titanio suspendidas en agua durante 2 horas y posteriormente tratadas con nitrato de cadmio (a) y su distribución de tamaño (b)..... 48

Figura 2.40. IR de **NPFT-H** (a), **NPFT-H-Cd** (b) y **NPFT-Cd-1** (c). 49

Figura 2.41. Espectro de **RMN** de P-31 (s) **NPFT-Cd-1** (A) y **NPFT-H-Cd** (B). Proceso de hidrolisis de **NPFT** (c) 50

Figura 2.42. Difractogramas de **NPFT-Cd-1** (a) y **NPFT-H-Cd** (b)..... 51

Figura 2.43. Micrografías **MET** y correspondiente distribución de tamaño de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de mercurio. **NPFT-Hg-1** (a), **NPFT-Hg-2** (b)..... 52

Figura 2.44. Micrografía **MET** de **NPFT-Hg-2**. Las líneas de distintos colores indican la variación en la concentración de distintos elementos a lo largo de la línea base. La línea roja indica la [Hg^{2+}]. 55

Figura 2.45. Espectro **IR** de **NPFT-Hg-1** (a) y **NPFT-Hg-2** (b). 56

Figura 2.46. Espectros **RMN** (P-31) de **NPFT-Hg-1** (a) y **NPFT-Hg-2** (b). Se ha añadido los espectros de **NPF**, **NPFT-Cd-1** y **NPFT-Cd-2**, a efectos comparativos. 57

Figura 2.47. Difractogramas de rayos X de **NPFT** (a), **NPFT-Hg-1** (b) y **NPFT-Hg-2** (c). 58

Figura 2.48. Difracción de electrones de las **NPFT** cargadas con mercurio. Nitrato (a), acetato (b)..... 58

Figura 2.49. Espectro Fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de mercurio. 59

Figura 2.50. Porcentajes del área de la señal de 720 nm en los espectros de fluorescencia en las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de mercurio. 59

Figura 2.51. Micrografías **MET** de **NPFT-Cu-2** (a) y su distribución de tamaño (b). 60

Figura 2.52. Espectro **IR** de **NPFT-Cu-2**. 62

Figura 2.53. Difractograma de rayos X de **NPFT** (a), y de **NPFT-Cu-2** (b). 62

Figura 2.54. Difracción de electrones asociada al **MET** de **NPFT-Cu-2**. 63

Figura 2.55. Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de **NPFT** y **NPFT-Cu-2**. 63

Figura 2.56. Porcentaje del área de la señal a 720 nm en el espectro de fluorescencia de **NPFT** y **NPFT-Cu-2** 63

Figura 2.57. Micrografía **MET** de NPFT-Cu-OH (a) y su distribución de tamaño (b). 64

Figura 2.58. Espectro **IR** de **NPFT** (a), **NPFT-Cu-2** (b) y **NPFT-Cu-OH** (c). 65

Figura 2.59. Difractograma de rayos X de **NPFT-Cu-2** (a) y **NPFT-Cu-OH** (b). 66

Figura 2.60. Difracción de electrones de **NPFT-Cu-OH**. 66

Figura 2.61. *Espectros **EFX** en las zonas correspondientes al orbital 2p del cobre, para **NPFT-Cu-2** (a), para **NPFT-Cu-OH** (c) y al orbital 1s del O para **NPFT-Cu-2** (b) y **NPFT-Cu-OH** (d).* 67

Figura 2.62. *Micrografías **MET** y distribución de tamaño de **NPFT-Ag-1** (a) y **NPFT-Ag-2** (b).* 70

Figura 2.63. Espectro de **IR** de **NPFT-Ag-1** (a) y **NPFT-Ag-2** (b)**.** En la imagen insertada se muestra un fragmento del espectro de **NPFT** a efectos comparativos. 72

Figura 2.64. Espectro de RMN (^{31}P) de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con nitrato de plata, **NPFT-Ag-1** (a) y acetato de plata, **NPFT-Ag-2** (b). 73

Figura 2.65. Difractograma de rayos X de las nanopartículas de fosfato de titanio (a), **NPFT**, y funcionalizadas con nitrato de plata, **NPFT-Ag-1** (b) y acetato de plata, **NPFT-Ag-2** (c). 75

Figura 2.66. Difracción de electrones de **NPFT-Ag-1** (a) **y NPFT-Ag-2** (b). 76

Figura 2.67. a) Micrografías **MET** de **NPFT-Cd-2-HCl** (a) y su distribución de tamaños (b). 77

Figura 2.68. Espectro **IR** de **NPFT-Cd-2-HCl**. Inserciones de **NPFT** y **NPFT-Cd-2**. 79

Figura 2.69. Espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-2-HCl** con dos inserciones, una a la izquierda de **NPFT-Cd-2**, otra a la derecha, de **NPFT**. 80

Figura 2.70. Difractograma de rayos X de **NPFT** (a), **NPFT-Cd-2** (b) y **NPFT-Cd-2-HCl** (c). 81

Figura 2.71. Difracción de electrones de **NPFT-Cd-2** (a) y **NPFT-Cd-2-HCl** (b). 82

Figura 2.72. Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas **NPFT**, **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-2-HCl**. 82

Figura 2.73. Porcentaje de las áreas de la señal a 720 nm en el espectro de fluorescencia de **NPFT**, **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-2-HCl**. 82

Figura 2.74. Micrografía **MET** de **NPFT-Hg-2-HCl** (a) y distribución de tamaño (b). 84

Figura 2.75. Espectro de **IR** de **NPFT-Hg-2-HCl** con inserciones de **NPFT** (izq.) y **NPFT-Hg-2**(dcha.) 86

Figura 2.76. Espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Hg-2-HCl** con inserciones conteniendo los RMN de P-31 de **NPFT-Hg-2** (izq.) y **NPFT** (dcha.) 87

Figura 2.77. Difractograma de rayos X de polvo de **NPFT** (a), **NPFT-Hg-2** (b) y c) **NPFT-Hg-2-HCl** (c). ... 88

Figura 2.78. Difracción de electrones de **NPFT-Hg-2-HCl**. 89

Figura 2.79. Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas **NPFT**, **NPFT-Hg-2** y **NPFT-Hg-2-HCl**..... 89

Figura 2.80. Porcentajes de las áreas de la señal de 720 nm de las nanopartículas de **NPFT**, **NPFT-Hg-2** y **NPFT-Hg-2-HCl**. 89

Figura 2.81. Posible esquema de la formación de enlaces covalentes entre las NPFT y las proteínas utilizando polialilamina y glutaraldehido. 91

Figura 2.82. Posible esquema de la formación de enlaces covalentes entre las **NPFT** y las proteínas utilizando **EDC** e imidazol. 92

Figura 2.83. Espectro de infrarrojo de las nanopartículas **NPFT-OA-1**. En la imagen insertada de la izquierda se incluye un fragmento del espectro de infrarrojo del cloruro de octilamonio. En la imagen insertada de la derecha se recoge las bandas de las **NPFT** en la zona 500-700cm^{-1}. 94

Figura 2.84. Espectro de **RMN** de C-13(s) de las nanopartículas **NPFT-OA-1** (a). En la imagen insertada de la izquierda se muestra el espectro de **RMN** C-13 del cloruro de octilamonio en $CDCl_3$ (142-95-0). (Datos obtenidos a través del buscador Scifinder). Espectro de **RMN** de P-13(s) de las nanopartículas **NPFT-OA-1** (b). La imagen insertada de la izquierda se recoge el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT**. La imagen insertada a la derecha contiene el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-H-Cd.**..... 95

Figura 2.86. Micrografía **MET** de las **NPFT-OA-2**. 96

Figura 2.87. Espectro **IR** de las nanopartículas **NPFT-OA-2**. En la imagen insertada de la izquierda se muestran algunas bandas características del ión octilamonio y la imagen insertada in la parte derecha contiene un fragmento del espectro de infrarrojo de **NPFT** en la zona 500-700 cm^{-1}. 97

Figura 2.88. Espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-2**. En la imagen insertada a la izquierda se recoge el espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT**. En la imagen insertada a la drcha. se recoge el espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-1**..... 98

Figura 2.89. Difractogramas **NPFT** (a) y **NPFT-AO-2** (b). 99

Figura 2.90. Espectro de **IR** de **NPFT-OA-2-A**. Las imágenes insertadas en la parte superior corresponden a distintos fragmentos del infrarrojo de **NPFT-AO-2** (Figura 2.87). La imagen injertada en la parte inferior izquierda muestra algunas bandas características del cloruro amónico. La imagen inferior derecha muestra la zona 500-700 cm^{-1} de **NPFT**. 100

Figura 2.90. Micrografía **MET** y distribución de tamaño de **NPFT-ASB-2**. 102

Figura 2.91. Difracción de electrones de **NPFT-ASB-2**. 102

Figura 2.93. Espectro de **IR** de **NPFT-ASB-2**. La imagen insertada a la derecha muestra algunas bandas propias de la **ASB**. La imagen insertada a la izquierda recoge un fragmento del espectro de infrarrojo de **NPFT**. 103

Figura 2.94. Espectro de **IR** de **NPFT-ASB-2-A**. Imágenes insertadas arriba a la derecha corresponden a fragmentos del espectro de **FTIR** de **NPFT-ASB-2**. La imagen insertada abajo a la derecha muestra algunas bandas de la albúmina. La imagen insertada abajo en el centro recoge las bandas más características del cloruro amónico. La imagen insertada abajo a la derecha recoge una sección del espectro de **IR** de **NPFT**. 104

Figura 2.95. Fragmento de los espectros **IR** (en la zona 2800-4000 cm-1) de **NPFT-OA-2**, **NPFT-Cd-1-OA**, **NPFT-Cd-2-OA** y **NPFT-Cd-3-OA**. 105

Figura 2.96. Espectro **IR** de **NPFT-Cd-1-OA**. En la imagen insertada abajo a la izquierda incluye algunas señales características del cloruro de octilamonio. En la imagen insertada abajo a la derecha incluye un fragmento de **NPFT-Cd-1**, el que corresponde la zona 500-700 cm^{-1}. 106

Figura 2.96. Espectro de **RMN** de C-13(s) de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA** (a). En la imagen insertada a la izquierda se muestra el espectro de **RMN** C-13 del cloruro de octilamonio en $CDCl_3$ (142-95-0). (Datos obtenidos a través del buscador Scifinder). Espectro de **RMN** de P-13(s) de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA** (b). La imagen insertada a la izquierda se recoge el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1**. La imagen insertada a la derecha contiene el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-2**..... 107

Figura 2.97. a) Micrografía **MET** de **NPFT-Cd-1-OA** y b) su distribución de tamaño. 108

Figura 2.98. Difractograma de rayos X de **NPFT** (a), **NPFT-Cd-1 (**b), **NPFT-Cd-1- OA** (c). 109

Figura 2.99. Difracción de electrones de **NPFT-Cd-1-OA**. 110

Figura 2.100. Micrografía **MET** de **NPFT-Cd-1-AO-HCl** (a) y su distribución de tamaño (b). 111

Figura 2.101. Espectro **IR** de **NPFT-Cd-1-OA-HCl**. 112

Figura 2.102. Difractograma de rayos X de **NPFT** (a), **NPFT-Cd-1-OA** (b) y **NPFT-Cd-1-OA-HCl** (c). 113

Figura 2.103. Difracción de electrones de **NPFT-Cd-1-OA** (a) y **NPFT-Cd-1-OA-HCl** (b). 114

Figura 2.104. Espectro de **RMN** de P-13(s) de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA-HCl**. En la imagen insertada a la izquierda se recoge el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1-OA**. La imagen insertada a la derecha contiene el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT**. 115

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. 1. Log Kps de diferentes fosfatos. 2

Tabla 2.1. Composición media de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT**, obtenida mediante la técnica **EDE**. 13

Tabla 2.2. Composición media (% átomos) de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT**, y de las mismas suspendidas en agua durante 2 horas, **NPFT-H**. 25

Tabla 2.3. Medidas de pH del sobrenadante de una suspensión obtenida al añadir 50 mg de **NPFT** sobre una disolución de una sal metálica (2,1 mmoles) en 21 mL de agua, tras 5 días de agitación a temperatura ambiente. 29

Tabla 2.4. Composición media (**MET**) (% átomos ± desviación estándar) de **NPFT-Cd-1**; **NPFT-Cd-1-TA-1**; **NPFT-Cd-1-TA-2**. 31

Tabla 2.5. Composición media (% átomos ± desviación estándar) de **NPFT**, **NPFT-Cd-1.** 34

Tabla 2.6. Composición media (% átomos ± desviación estándar) de **NPFT**, **NPFT-Cd-1**, **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3.** 40

Tabla 2.7. Composición (**EDE**) media (%átomos) de las nanopartículas **NPNPFT-H-Cd y NPFT- Cd-1.** .. 49

Tabla 2.8. Composición media (% átomos) de las nanopartículas de fosfato de titanio con Hg^{2+}. Los porcentajes correspondientes a las nanopartículas similares con Cd^{2+} se han añadido a efectos comparativos. 53

Tabla 2.9. Composición (**EDE**) media (% átomos) de las nanopartículas de fosfato de titanio sin funcionalizar. 61

Tabla 2.10. Composición (**EDE**) media (% atómico) de **NPFT-Cu-2** y **NPFT-Cu-OH**. 65

Tabla 2.11. Energías de ligadura (eV) de niveles internos de **NPFT-Cu-2** y **NPFT-Cu-OH**. En la segunda columna la relación de áreas de línea satélite y del pico principal aparece como un número subrayado. El pico O1S presenta dos components: La más intense (84-89%) es de Oxígeno de red y la de menor intensidad (11-16%) es debida al agua molecular absorbida. 68

Tabla 2.12. Abundancia relativa de los elementos P, Ti, Na y Cu en **NPFT**, **NPFT-Cu-2** y **NPFT-Cu-OH**. 69

Tabla 2.13. Composición (**EDE**) **NPFT**, **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2**. 71

Tabla 2.14. Composición media de las nanopartículas **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-2-HCl** obtenidas por **EDE** (**MET**). 78

Tabla 2.15. Composición (%átomos) de **NPFT-Hg-2** y **NPFT-Hg-2-HCl**. 85

Tabla 2.16. Composición (**EDE**) de **NPFT-Cd-1-OA** y **NPFT-Cd-1-OA-HCl**. 111

Lista de Abreviaturas

MET: Microscopia Electrónica de Transmisión.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

RMN (s): RMN de sólido.

RMN (TPC-RAM): RMN de transferencia de polarización cruzada y rotación de ángulo mágico.

RMN (RAM)**:** RMN de rotación de ángulo mágico.

EDE: Espectroscopía de Dispersión de Energía de Rayos X asociado al **MET**.

JCPDS: "Joint Comittee on Powder Difraction Standars"

IR: Infrarrojo.

EFX: Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X.

EDC: N-Etil-N´-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida.

ASB: Albúmina de Suero Bovino.

1. Introducción

La presente Tesis doctoral se llevó a cabo dentro del marco de cooperación que mantiene nuestro grupo con el del Profesor Agustín Costa García, Catedrático de Química Analítica de la Universidad de Oviedo.

Entre otros temas, el Prof. A. Costa García está interesado en el empleo de nanopartículas de diverso tipo como marcas para biosensores electroquímicos. En particular, su grupo ha logrado ampliar considerablemente el campo de aplicación de unas nanopartículas de Fosfato de Titanio, recientemente preparadas y que apenas habían sido utilizadas con fines analíticos con anterioridad. [1,2,3,4,5]

Así, el Doctor D. Martín Yerga, del grupo del Prof. A. Costa García, ha utilizado nanopartículas esféricas de Fosfato de Titanio obtenidas con ayuda del surfactante docusato sódico[1], **NPFT**, cargadas con Cd^{2+} y funcionalizadas con neutravidina como marca de detección para la determinación de biotina de un modo ventajoso frente a procedimientos alternativos. De modo semejante, ha usado **NPFT** cargadas con Cu^{2+} y **NPFT** cargadas con Hg^{2+} (ambas funcionalizadas con neutravidina) para preparar un biosensor multianalito para la detección de biomarcadores de la enfermedad celiaca de una manera sencilla y rápida. En ambos casos, en el paso final, los cationes metálicos son liberados en medio ácido para poder determinar su concentración electroquímicamente.[6]

De otro lado, el mismo Doctor D. Martín Yerga ha utilizado **NPFT** cargadas con iones metálicos M^{z+} en aplicaciones electrocatalíticas. Así, el efecto electrocatalítico de las partículas de **NPFT** cargadas con Ag (I) frente a la reducción de H_2O_2 es utilizado como método de detección de glucosa en un biosensor enzimático. De modo semejante, el efecto catalítico de **NPFT** modificadas con Cu^{+2} frente a la oxidación de glucosa es empleado para la detección de glucosa en medios agroalimentarios y clínicos.[6]

Los fosfatos metálicos constituyen un campo de trabajo de gran interés científico e industrial.[7,8] Entre sus aplicaciones destacan la catálisis [9, 10, 11], el intercambio iónico [12, 13], la conducción de protones [14] o el uso en las pilas de litio.[15, 16]

Dentro del grupo de los fosfatos metálicos, los fosfatos de titanio constituyen un área específica, cuyas aplicaciones son, en cierto modo paralelas a las comentadas en el párrafo anterior. Catalizan diversas reacciones orgánicas[1, 11, 17, 18, 19, 20, 21], intercambian protones por iones metálicos[22, 23, 24, 25, 26, 27, 28] o por surfactantes[29], intercalan aminas protonándolas[30], son conductores iónicos[31], etc.

En la referencia *26*, se estudió la adsorción de los iones Pb^{2+}, Zn^{2+} y Cd^{2+} por parte de fosfato de titanio amorfo (ecuación 1.1) con mayor profundidad. La reacción puede ser descrita convenientemente por la *ecuación 1.1*.

$$Ti(HPO_4)_2 + (1/2)\ M^{2+} \rightleftharpoons TiM_{1/2}H(PO_4)_2 + H^+$$

Ecuación 1 1. *Ecuación de la adsorción de iones por parte de fosfato de titanio amorfo.*

Cuando la sustitución de protones por metales se lleva a cabo en presencia de iones Ca^{2+} se observó que la preferencia de los fosfatos por los distintos iones sigue la secuencia $Pb^{2+} > Zn^{2+} \approx Cd^{2+} > Ca^{2+}$. Tal preferencia no se puede explicar por la teoría de ácidos duros y blandos (el Ca^{2+}, que es el más duro debiera ser el preferido), pero sí por el producto de solubilidad de los fosfatos de los distintos cationes.

Fosfatos Metálicos	$Ca_3(PO_4)_2$	$Cd_3(PO_4)_2$	$Zn_3(PO_4)_2$	$Pb_3(PO_4)_2$
Log Kps	-27.70	-31.44	-32.04	-42.09

Tabla 1. 1. *Log Kps de diferentes fosfatos.*

Se conocen Fosfatos de Titanio con diferentes estructuras.[7, 8, 32] Entre los más conocidos están fosfatos laminares; de ellos los más estudiados son, sin duda, el α-$Ti(HPO_4)_2.H_2O$ y el γ-$Ti(H_2PO_4)(PO_4).2H_2O$,[33,34] (cuya estructura está detallada en la *Figura 1. 1*), aunque no son los únicos descritos.[23, 35]

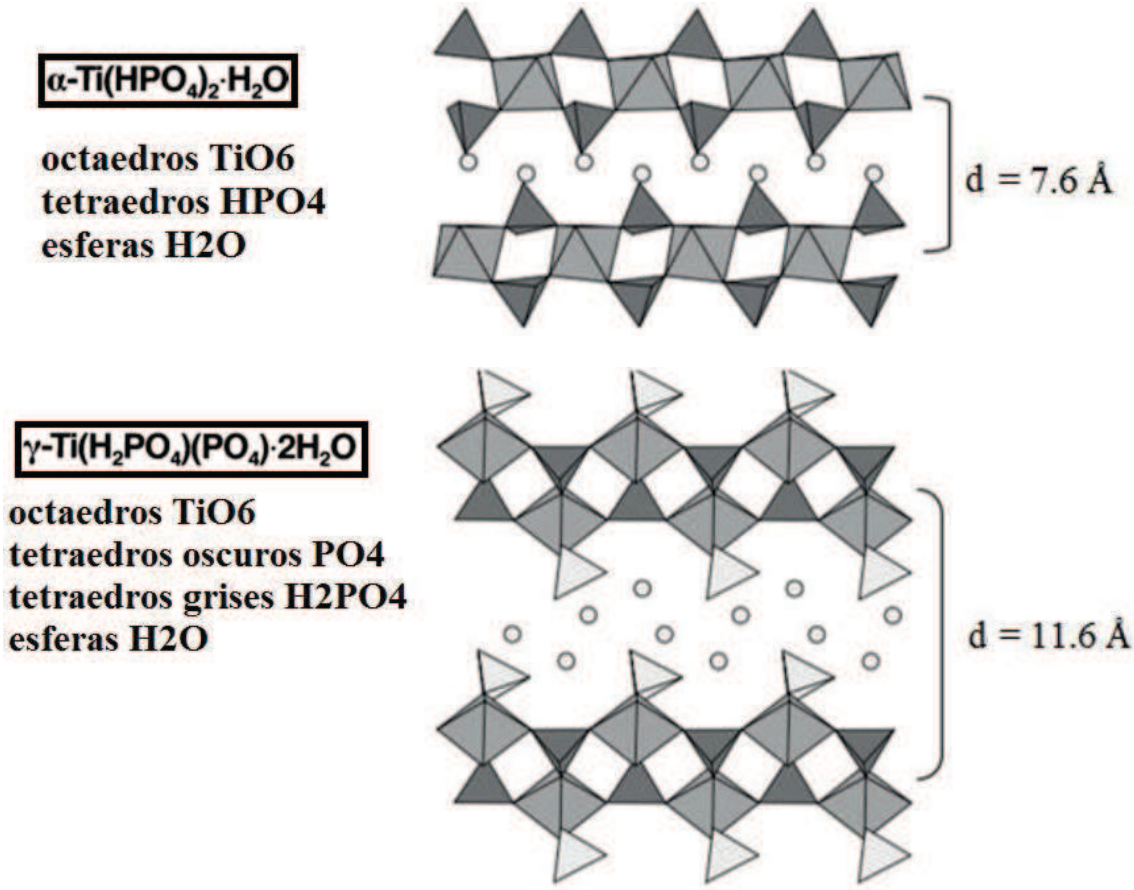


Figura 1. 1. *Estructura laminar de α-$Ti(HPO_4)_2.H_2O$ y γ-$Ti(H_2PO_4)(PO_4).2H_2O$.*

Por otra parte, existen fosfatos de titanio amorfos[34], con estructura mesoporosa[24, 35], en forma de películas[25] o de fibras[36], impregnando un intercambiador de iones polimérico[27], como nanopartículas[1, 2, 21], nanoesferas huecas[28] o nanotubos[37], etc.

De todos ellos merecen especial atención los Fosfatos de Titanio en forma de nanopartículas mesoporosas, **NPFT**, que se obtienen a partir de ácido fosfórico y $Ti(OBu)_4$ con ayuda del surfactante docusato sódico[1], pues constituyen el producto de partida del presente trabajo. Las nanopartículas tienen un diámetro de unos 50 nm como muestra una micrografía **MET** de las mismas (*Figura 1. 2*).

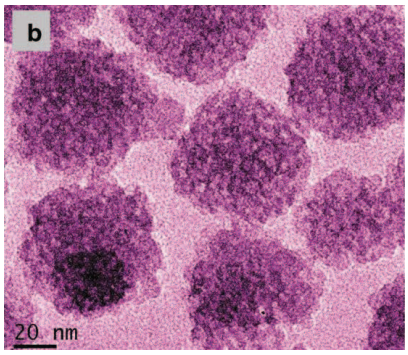


Figura 1. 2. *(fig. 1b de la referencia 1) Micrografía* ***MET*** *de las* ***NPFT****.*

Las **NPFT** poseen un núcleo cristalino constituido por trifosfato de dititanio y sodio, $NaTi_2(PO_4)_3$ (**JPCDS** No. 33-1296), como indica su difractograma de rayos X, *Figura 1.3*, y la banda a -26,4 ppm de su espectro de **RMN** P-31 de sólido (**TPC-RAM**), *Figura 1.4.* Su corteza está formada por hidrógenofosfatos y dihidrógenofosfatos de titanio como revelan las señales a -19,1 ppm $(HPO_4)^{2-}$ y -10,9 ppm $(H_2PO_4)^-$ en el espectro **RMN** P-31 (**TPC-RAM**), recogido en la *Figura 1.4*.

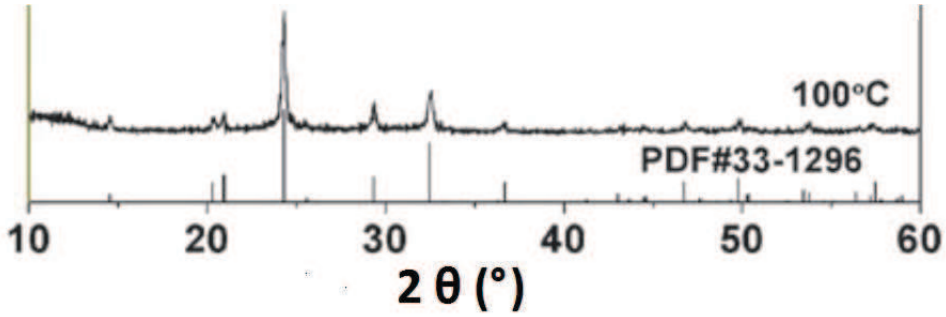


Figura 1.3. *(Fragmento de la Fig. 2a de la referencia 1).Difractograma de las NPFT a 100ºC en la parte superior. En la parte inferior, difractograma de* $NaTi_2(PO_4)_3$*.*

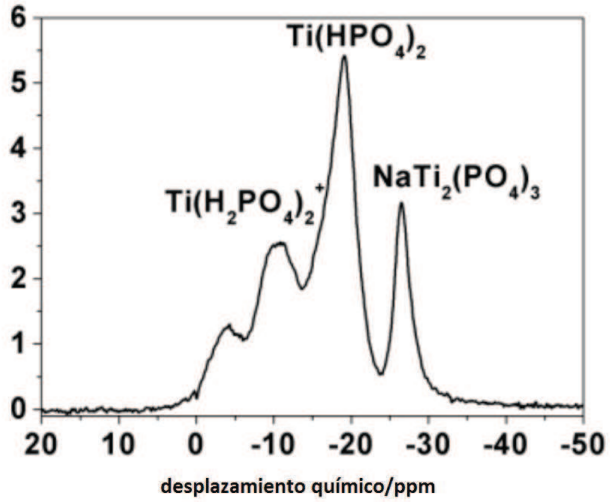


Figura 1.4. *(Fig S2a de la referencia 1). Espectro de* ***RMN*** *P-31 (****PC-RAM****) de las* ***NPFT.***

Las **NPFT** retienen, además, moléculas de agua y del surfactante (señales a 4,27 y 1,7 ppm respectivamente de su espectro **RMN** H-1 (**RAM**) de sólido, *Figura 1. 5*). La otra señal del espectro de protón a 8,97 ppm es atribuida a los grupos P-O-H.

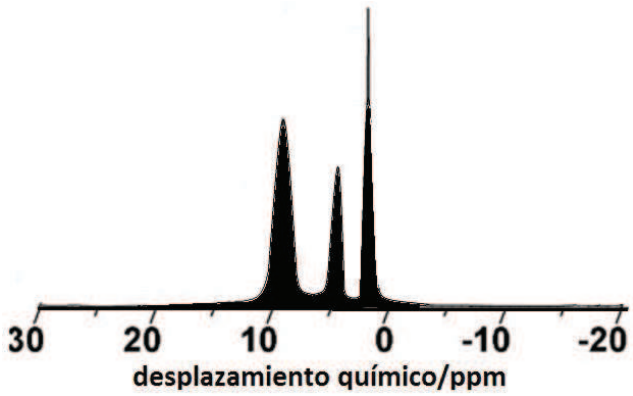


Figura 1. 5. *(Fragmento de la Fig 3 de la referencia 1). Espectro de* ***RMN*** *H-1 (****RAM****) de las* ***NPFT****.*

Por la presencia de los fosfatos ácidos $(HPO_4)^{2-}$ y $(H_2PO_4)^-$, las nanopartículas pueden actuar como ácidos de Brønsted y en consecuencia son capaces de catalizar la cetalización de la ciclohexanona y etilenglicol para formar el etilenacetal de la ciclohexanona, véase *Figura 1. 6.*

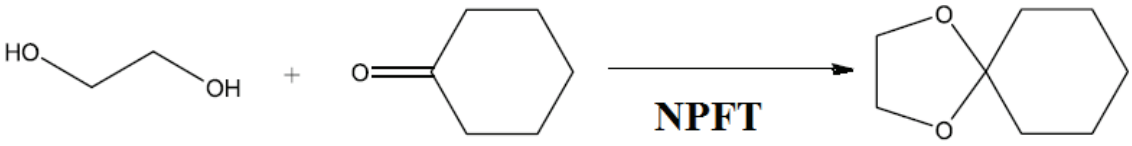


Figura 1. 6. *Cetalización de la ciclohexanona y el 1,2 etanodiol catalizada por las* ***NPFT****.*

Otras nanopartículas de Fosfato de Titanio muy semejantes a **NPFT** en composición y estructura han sido preparadas utilizando dodecilsulfato de sodio y p-dodecilbencenosulfonato de sodio en lugar de docusato de sodio[2]. Tanto unas como otras fueron utilizadas como marcas para biosensores. Para ello, las nanopartículas tuvieron que incorporar cationes metálicos electroquímicamente activos aprovechando su capacidad para intercambiar iones y, a continuación ser funcionalizadas con diversas proteínas. Los iones escogidos fueron Cd(II)[2, 3, 4, 5] o Zn(II)[3] y las proteínas elegidas fueron anticuerpos anti-IgG humana generadas en cabra[2], estreptavidina[4], anticuerpos anti-antígeno protector generados en ratón[5] o anticuerpos anti-troponina cardiaca I para el Cd^{2+} y anticuerpos anti-proteína cardíaca transportadora de ácidos grasos, para el Zn^{2+}.[3] En todos los casos citados las distintas proteínas se unieron a las nanopartículas utilizando polialilamina y glutaraldehido. En la *Figura 1.7* se muestra el mecanismo más probable. En un primer paso, la polialilamina se uniría a la nanopartícula mediantes pares iónicos $–PO^{-}\ {}^{+}H_3N-$ que se formarían tras ser protonados sus grupos $-NH_2$ con los fosfatos ácidos. A continuación, los grupos amino libres del polímero reaccionarían con un extremo del glutaraldehido formando iminas, -N=C<, quedando libres los grupos –C(=O)H del otro extremo para unirse a los grupos $-NH_2$ de las proteínas.

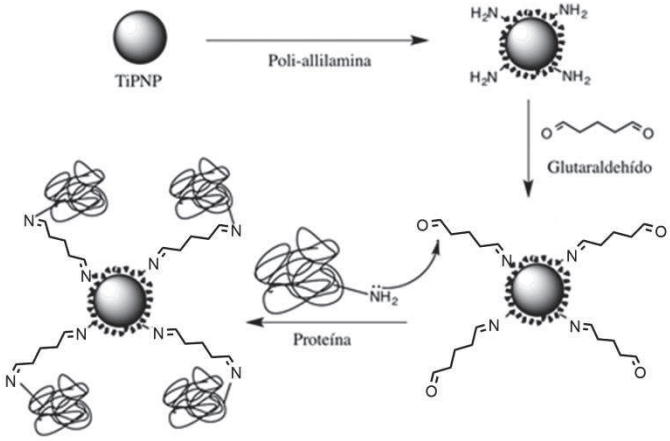


Figura 1.7. *Esquema de funcionalización de las nanopartículas con las proteínas.*

Otros fosfatos de titanio destacables son los que adoptan la estructura de nanoesferas huecas[28] que fueron utilizadas como marcas para biosensores, si bien, en este caso, el catión incorporado fue la plata (I), que luego se redujo a Ag (0) con borohidruro sódico, y el antígeno utilizado se unió a la nanopartícula a través del enlace de la plata metálica formada con grupos tio o amino de la propia proteína.

Finalmente, entre los fosfatos de titanio cabe señalar el trifosfato de dititanio y sodio, $NaTi_2(PO_4)_3$. Pertenece a un grupo de compuestos, los $\mathbf{M^{I}(Ti,Zr)_2(PO_4)_3}$ (M^{I} = Li, Na, K) cuya estructura cristalina les permite fácilmente incorporar cationes metálicos de todo tipo,[38] lo que les hace particularmente útiles en el campo de los residuos nucleares. También forma parte de un grupo mucho más amplio, los $\mathbf{AMM´P_3O_{12}}$ (A= Li^+, Na^+, K^+, Rb^+, Cs^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, H^+, H_3O^+, NH_4^+, Cu^+, Cu^{2+}, Ag^+, Pb^{2+}, Cd^{2+}, $Mn^{2?}$, Co^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, Al^{3+}, Ln^{3+} (Ln = lantánidos), Ge^{4+}, Zr^{4+}, Hf^{4+} o permanece vacío. M, M´= Zn^{2+}, Cd^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Fe^{3+}, Sc^{3+}, Ti^{3+}, V^{3+}, Cr^{3+}, Al^{3+}, In^{3+}, Ga^{3+}, Y^{3+}, Lu^{3+}, Ti^{4+}, Zr^{4+}, Hf^{4+}, Sn^{4+}, Si^{4+}, Ge^{4+}, V^{5+}, Nb^{5+}, Ta^{5+}, Sb^{5+}, As^{5+}. El P puede estar parcialmente substituidos por Si o As) denominados superconductores iónicos de sodio (Nasicons, sodium super ion conductors)[39] que son usados en el área del almacenamiento de energía específicamente para la obtención de baterías.

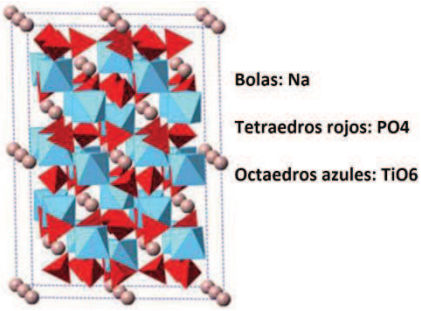


Figura 1. 8. *(Fragmento de figura 7 de la ref. 40):*

Estructura cristalina del $NaTi_2(PO_4)_3$

En particular el $NaTi_2(PO_4)_3$ es capaz de insertar iones de litio[41] y sodio[40, 42] y de intercambiar Na^+ por Plata (I)[43] y por protones[44].

Además el $NaTi_2(PO_4)_3$ es fotoluminiscente[38]. Por lo que a este trabajo se refiere, lo más interesante es que emite una banda en torno a 750 nm, atribuida a impurezas de Ti^{3+}, que es muy sensible a su cristalinidad, de forma que la banda desaparece en estado amorfo (véase *Figura 1.9*). En realidad, el espectro de emisión también es sensible a la inserción de iones, a la temperatura y en general al entorno del titanio.

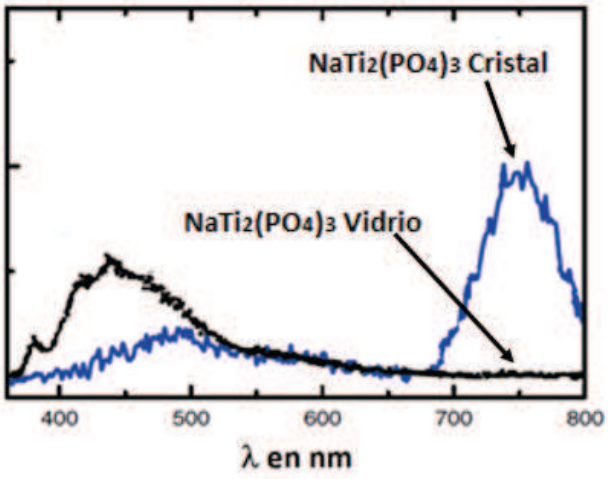


Figura 1.9. *(Fragmento de la figura 5b de la referencia 38). Espectro de luminiscencia (emisión) del $NaTi_2(PO_4)_3$*

.

Objetivos:

A la vista de los estudios llevados a cabo por el grupo del Prof. A. Costa García y, en general, del papel que tienen y pudieran llegar a tener las nanopartículas de Fosfato de Titanio, **NPFT**, como marcas en la construcción de biosensores, el presente trabajo se inició con el propósito de alcanzar los siguientes objetivos:

- Acabar de caracterizar las **NPFT**, pues la banda del espectro de **RMN** P-31 (**TPC-RAM**) hacia -6 ppm no estaba asignada.
- Explorar la posibilidad de modificar la cantidad de metal cargado en las nanopartículas, pues es evidente que cuanto mayor sea la concentración del metal electroquímicamente activo más sensible será el biosensor.
- Analizar la naturaleza del proceso de incorporación de iones metálicos a la **NPFT** y su posterior liberación en medio ácido.
- Simplificar el procedimiento de anclar las proteínas a las **NPFT**, utilizando una amina como modelo.
- Evaluar la influencia de la concentración de los iones metálicos en las **NPFT** en su capacidad para unirse posteriormente a los grupos amino (si se lograra aumentar la carga de un catión metálico dado en la **NPFT**).
- Estudiar la reacción de las nanopartículas de fosfato de titanio modificadas con cobre al ser enfrentadas a un medio ligeramente básico.

2. Discusión de Resultados

2.1. Nanopartículas de Fosfato de Titanio, NPFT.

2.1.1 Caracterización de las NPFT.

Las nanopartículas de Fosfato de Titanio obtenidas en nuestro laboratorio, de ahora en adelante **NPFT**, han sido preparadas siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía[1,3], utilizando como reactivos: ácido fosfórico sólido (H_3PO_4), tetrabutóxido de titanio, ($Ti(OBu)_4$) y 1,4-bis(2-etilhexoxi)-1,4-dioxobutano-2-sulfonato de sodio (docusato sódico) ($C_{20}H_{37}NaO_7S$) como surfactante, véase *Figura 2.1*, con mínimas modificaciones.

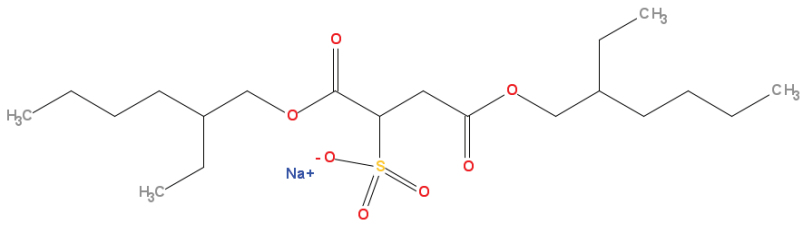


Figura 2.1. *Fórmula desarrollada del surfactante, docusato sódico.*

El producto obtenido, que ha sido caracterizado mediante difracción de rayos X, **MET** (Microscopía Electrónica de Transmisión), **RMN** de P-31, y Espectroscopía de Infrarrojo, coincide salvo en el tamaño con el descrito en la bibliografía.[1]

Se trata de un material constituido por nanoesferas, tal como se puede observar en la micrografía **MET** recogida en la *Figura* 2.2-a, con un diámetro medio de 30 nm y una distribución de tamaño bastante homogénea, 30 ± 5 nm (véase *Figura* 2.2-*b*), no sólo dentro de cada preparación sino a lo largo de toda la serie de síntesis llevadas a cabo durante este trabajo.

Las nanopartículas descritas en la bibliografía, tienen, por el contrario, un diámetro medio de 50 nm. Esta diferencia de tamaño pone de manifiesto que debe existir alguna

diferencia entre ambos métodos. Sin embargo, dado que en la bibliografía el procedimiento está descrito de forma poco detallada, resulta difícil conocer cuál es la razón de esta diferencia.

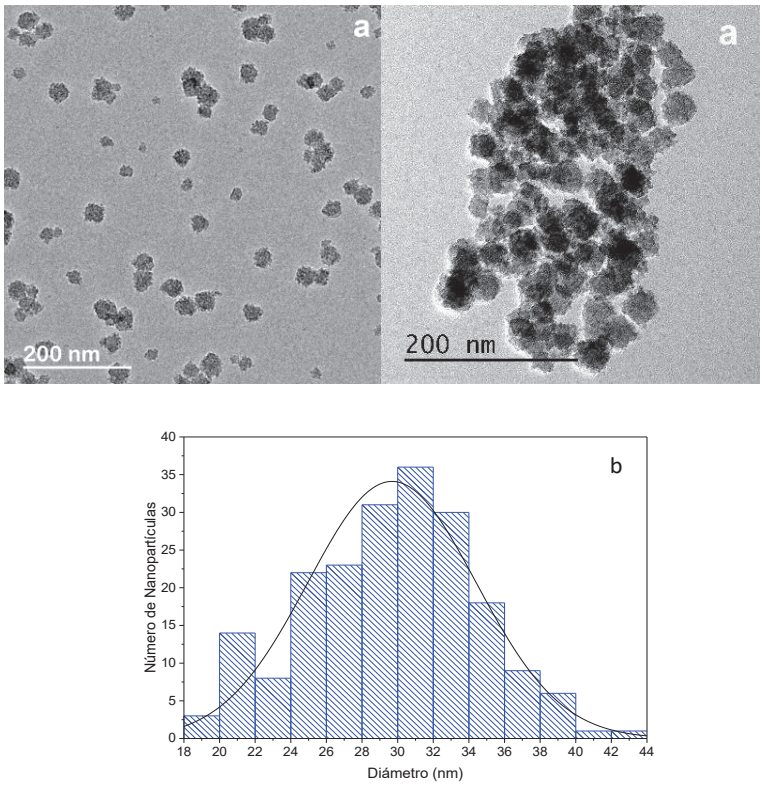


Figura 2.2. *Micrografías **MET** de las **NPFT** (a) y su distribución de tamaño (b).*

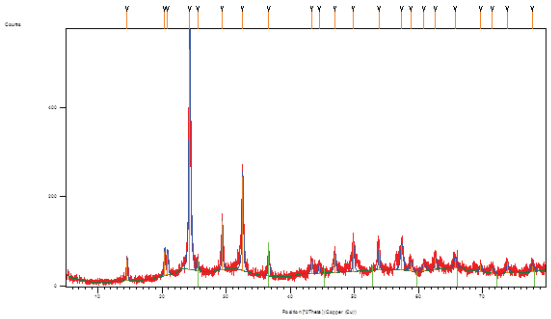
La composición promedio de las nanopartículas de Fosfato de Titanio (en porcentaje atómico), es conocida semi-cuantitativamente mediante la **EDE** (Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X) asociada al **MET** y se puede ver en la tabla siguiente. Como se puede observar se detecta titanio, fósforo, sodio y oxígeno. El porcentaje de este último se calcula por defecto, de forma que la suma de los porcentajes parciales llegue a 100, eso quiere decir que el porcentaje de oxígeno incluye no sólo el porcentaje del oxígeno sino el de todos los demás elementos no registrados expresamente. Debe hacerse notar que las medidas obtenidas por **EDE** no son valores exactos por falta de patrón externo, un problema inherente a la técnica. Además, todas las medidas están afectadas por el hecho de que la rejilla es de cobre (aunque al hacer las medidas simplemente se elimina la contribución de cobre). Si admitimos como hipótesis razonable que en todas las reacciones llevadas a cabo en este trabajo los átomos de Titanio no son reemplazados, algo que no se ha demostrado, se puede tomar la fracción (% elemento/% Titanio) como elemento comparativo razonable entre medidas hechas a distintas

nanopartículas. Dado que, en general, nosotros solo estamos interesados en el aumento relativo de iones metálicos que se van a incorporar a las nanopartículas, las medidas obtenidas son bastante fiables, o cuando menos, muy orientativas.

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37

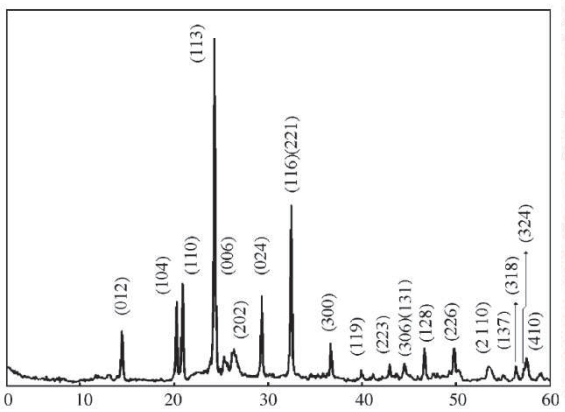
Tabla 2.1. *Composición media de las nanopartículas de fosfato de titanio,* ***NPFT****, obtenida mediante la técnica* ***EDE****.*

Tanto el material obtenido en nuestro laboratorio, **NPFT**, como el descrito en la bibliografía[1], contienen una fase cristalina, véase *Figura 2.3,* el $NaTi_2(PO_4)_3$.[45]



Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	FWHM [°2Th.]	Espaciado [Å]	Int. Rel. [%]
14.5292	48.32	0.1968	6.09667	9.82
20.4323	54.27	0.2362	4.34668	11.03
20.8854	47.71	0.2755	4.25340	9.69
24.3511	492.14	0.3542	3.65533	100.00
25.5762	28.54	0.2362	3.48295	5.80
29.3990	110.17	0.1968	3.03818	22.39
32.5467	210.65	0.2755	2.75118	42.80
36.6468	54.66	0.2755	2.45224	11.11
43.3396	29.11	0.3149	2.08781	5.92
44.5294	19.39	0.2362	2.03474	3.94
46.9878	39.32	0.3936	1.93386	7.99
49.8790	66.57	0.2362	1.82833	13.53
53.8539	50.95	0.1968	1.70240	10.35
57.4073	57.60	0.4723	1.60518	11.70
58.8506	21.19	0.4723	1.56921	4.31
60.8811	15.42	0.6298	1.52165	3.13
62.7150	27.74	0.3149	1.48150	5.64
65.7387	22.61	0.5510	1.42049	4.59
69.7440	17.67	0.3936	1.34839	3.59
71.5764	11.48	0.4723	1.31831	2.33
73.8942	23.68	0.3149	1.28259	4.81
77.7622	13.80	0.5760	1.22716	2.80

Figura 2.3. *Difractograma de rayos X (y asignación de picos) de las* ***NPFT.***



hkl	*I*	*d*	*hkl*	*I*	*d*
012	14	6.095	312	1	2.0053
104	20	4.3770	128	15	1.9455
110	32	4.2450	134	3	1.9100
113	100	3.6660	0210	2	1.8740
006	10	3.6320	315	2	1.8473
202	4	3.4850	226	16	1.8330
024	28	3.0480	0012	5	1.8152
116	64	2.7590	042	6	1.8128
(211)	(64)	(2.7590)	404	<1	1.7419
122	2	2.6940	2110	9	1.7144
018	1	2.5530	137	7	1.7058
214	2	2.4761	321	<1	1.6821
300	16	2.4520	232	1	1.6674
208	2	2.1883	318	6	1.6328
119	7	2.1032	324	5	1.6115
217	2	2.0733	410	11	1.6048
223	5	2.0378	229	2	1.5959
306	6	2.0322	235	2	1.5733
(131)	(6)	(2.0322)	413	2	1.5670

Figura 2.4. *Difractograma, y asignación de picos del $NaTi_2(PO_4)_3$, tomados de la referencia 45.*

Como se puede apreciar en la *Figura 2.5, donde se compara la posición de los picos del difractograma de* ***NPFT*** *y los indexados en* ***JCPDS*** *Nº 33-1296 para* $NaTi_2(PO_4)_3$*, las posiciones son básicamente las mismas para los picos más abundantes.*

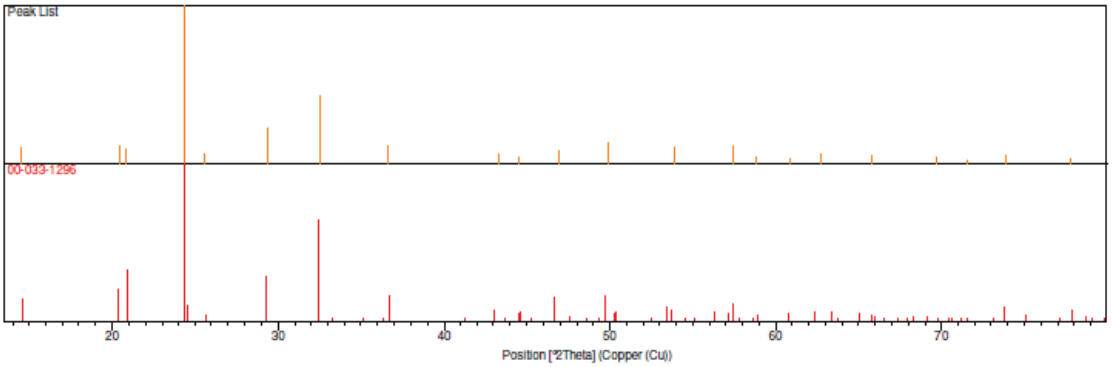


Figura 2.5. *Comparación picos de difractograma de DRX de* ***NPFT*** *(arriba) y* $NaTi_2(PO_4)_3$*, JCPDS 33-1296 (abajo).*

La existencia de esta fase ha sido ratificada por los datos de difracción de electrones durante las medidas llevadas a cabo por **MET**. Tales medidas indican la existencia de 3 tipos de planos cristalográficos cuyas distancias interplanares son 3,04; 3,66 y 6,06 Å (*Figura 2.6*), que corresponde a valores de 2θ = 29,4; 24,3 y 14,6 en la difracción de rayos X (se ha establecido esta conversión para poder comparar los resultados de la *Figura 2.3* y de la *Figura 2.6*, también se podría haber convertido los datos de la *Figura 2.3* a distancias interplanares).

La persistencia de $NaTi_2(PO_4)_3$ también viene corroborada por la aparición de una señal a -27 ppm en su **RMN** de P-31 en estado sólido, característica de los iones $(PO_4)^{3-}$,[1] *(Figura 2.7)* y por las absorciones en el infrarrojo a 638 y 568 cm^{-1} [45] *(Figura 2.12).*

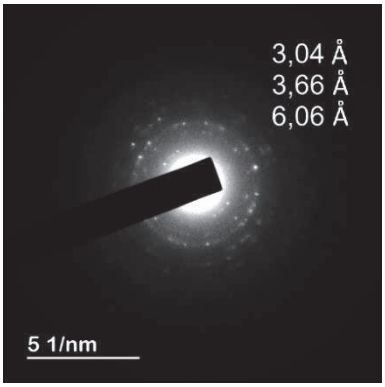


Figura 2.6. *Difracción de electrones de* ***NPFT****. Los números indican la separación entre planos.*

El espectro de **RMN** de P-31 de sólido de transferencia de polarización cruzada, **TPC** y rotación en ángulo mágico, **RAM**, de ahora en adelante P-31 **TPC-RAM**, de las **NPFT**, véase *Figura 2.7-a*, con señales a -28; -21; -14 y -6 ppm, coincide con el espectro **RMN** P-31 **TPC-RAM** de las nanopartículas de Fosfato de Titanio recogido en la bibliografía[1], véase *Figura 2.7-b*, con bandas a -26, -19, -11 y -4 ppm.

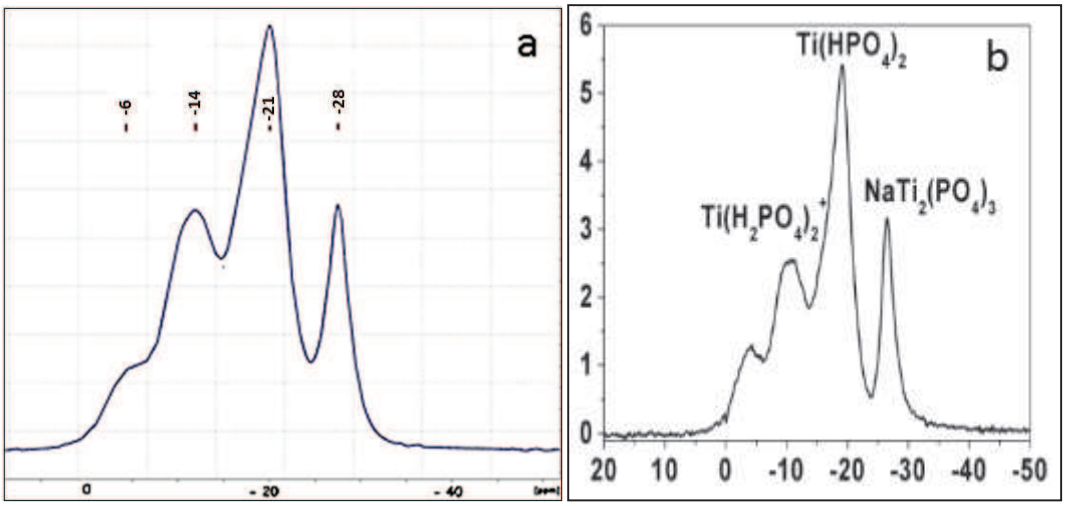


Figura 2.7. *Espectro de **RMN** P-31 **TPC-RAM** de las **NPFT** (a) y figure S2a, tomada del material suplementario de la ref. 1 (b)*

La literatura[1] asigna las bandas del espectro de la siguiente forma, la señal de -26 ppm a grupos PO_4^{-3} ($NaTi_2(PO_4)_3$), la segunda señal, -19 ppm, la asignan a los grupos HPO_4^{-2} y la tercera, de -11 ppm, a los grupos $H_2PO_4^-$.

Estas asignaciones se basan, en primer lugar, en que, en estudios anteriores[46], se encontró que los desplazamientos de los grupos $(H_2PO_4)^-$, $(HPO_4)^{2-}$ y $(PO_4)^{3-}$ aparecen a desplazamientos químicos δ -10, 20 y 30 ppm, respectivamente. Tales estudios son particularmente útiles porque se basan en medidas llevadas a cabo con acoplamiento y desacoplamiento de protones y mediante la técnica de transferencia de polarización cruzada (cross-polarization transfer), métodos muy sensibles para detectar la presencia y número de protones próximos al fósforo cuya señal se estudia[47] y parecen más fiables, por su generalidad, que otras correlaciones publicadas. [48, 49, 50, 51, 52, 53]

En segundo lugar, se tiene en cuenta los espectros **RMN** de P-31 **TPC-RAM** de las nanopartículas de Fosfato de Titanio obtenidas en la referencia 1 después de ser calentadas a distintas temperaturas, véase *Figura 2.8-a* y los difractogramas de rayos X de las mismas nanopartículas obtenidos a diversas temperaturas, véase *Figura 2.8-b.*[1] Como se puede comprobar tanto la señal a -26 ppm en el **RMN** de P-31 como el difractograma de la fase cristalina se mantienen más o menos inalterados al subir la temperatura, lo que, sin duda, refuerza la asignación de la banda a -26 ppm a la fase ($NaTi_2(PO_4)_3$).

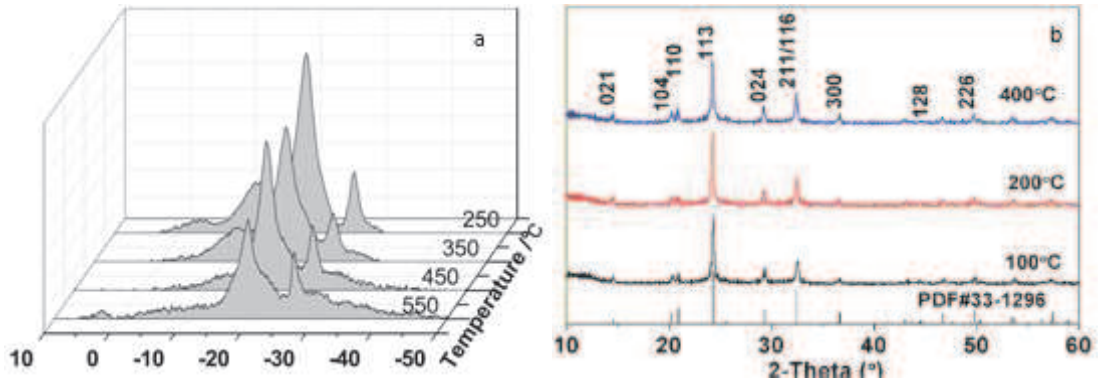


Figura 2.8. *Figura S2 b, tomada del material suplementario de la referencia 1 (a) Figura 2 A, tomada de la referencia 1 (b).*

Para confirmar la presencia de grupos fosfato, hidrogenofosfato y dihidrógenofosfato en las partículas de **NPFT** preparadas en nuestro laboratorio y con el fin de proponer una asignación para la señal que aparece a -4 ppm, que no se da en la referencia 1, (aunque una señal a -3 ppm fue asignada a grupos $(H_2PO_4)^{1-}$ en la referencia[53]) emprendimos una colaboración con el Dr. Leoncio Garrido del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (**CSIC**) de Madrid. Los estudios fueron llevados a cabo usando las técnicas mencionadas anteriormente, acoplamiento y desacoplamiento de protones y transferencia de polarización cruzada **TPC-RAM**. De esta manera se pudo corroborar a grandes rasgos las propuestas de la bibligrafia[1] y permiten sugerir que el pico a -4 ppm también es debido a grupos $(H_2PO_4)^{1-}$.

Con todo, al llevar a cabo los citados estudios aparecieron dos complicaciones. La primera fue que las medidas no resultaron tan concluyentes como se esperaba, debido a la presencia de iones docusato, $C_{20}H_{37}O_7S$, con muchos protones, en la periferia de las nanopartículas, lo que altera la influencia de los protones de los dihidrógenofosfatos e hidrógenofosfatos en las señales de **RMN** de P-31 debidas a las especies $(H_2PO_4)^{1-}$ y $(HPO_4)^{2-}$.

En efecto, la señal a 1 ppm del espectro de **RMN** de protón en estado sólido (de ahora en adelante **RMN** de H-1 (s)) de las nanopartículas **NPFT**, recogido en la *Figura 2.9,* es debida a

los grupos CH_2 y CH_3 del surfactante cuya presencia en las **NPFT** se pudo confirmar además mediante el espectro de infrarrojo (véase más adelante *Figura 2.12*). La señal de 4 ppm corresponde a agua de cristalización o absorbida físicamente. Finalmente, la tercera señal, a 8 ppm es atribuida a los hidrógenos de los grupos P-OH de los fosfatos ácidos, $(H_2PO_4)^{1-}$ y $(HPO_4)^{2-}$, de la parte amorfa de las nanopartículas.

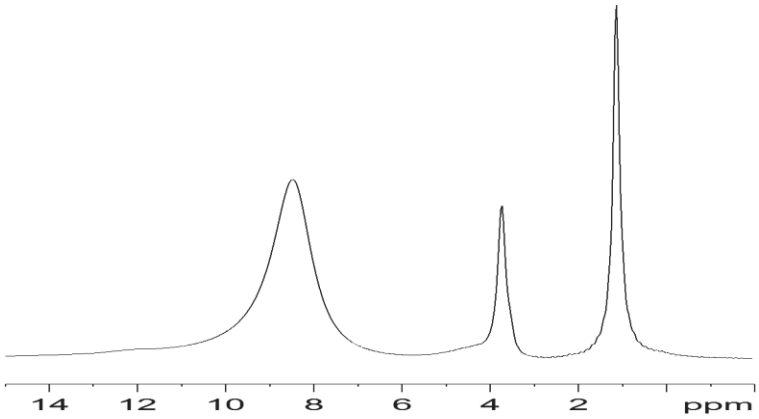


Figura 2.9. *Espectro de **RMN** de H-1 (s) de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT**.*

Todos los intentos de eliminar el docusato sódico lavando con agua, con etanol o bien con otros disolventes resultaron infructuosos. (Como es sabido, el uso de estos surfactantes es imprescindible para obtener las nanopartículas esféricas[1]).

La segunda dificultad surgió al analizar los espectros de **RMN** de P-31 **RAM** de las muestras preparadas con y sin desacoplamiento de los protones (*Figura 2.10*), y consistió en la aparición de una señal a 0 ppm, debida a ácido fosfórico[53]. Este ácido fosfórico se formó, sin duda, por hidrólisis de los hidrógenofosfatos, los dihidrógenofosfatos o incluso los fosfatos. Esto supone una complicación inesperada y su repercusión en las reacciones del **NPFT** con distintos iones metálicos se tratará más adelante.

Respecto a las asignación de las bandas del espectro de *la Figura 2.10*, se puede concluir que la señal debida a los fósforos sin hidrógenos, esto es la correspondientes a la fase ($NaTi_2(PO_4)_3$), a – 27,5 ppm, no sufre alteracion alguna, mientras que la intensidad de las señales que corresponden a los grupos $(HPO_4)^{2-}$ a -20 ppm y $(H_2PO_4)^{1-}$ a -12 y -6 ppm y el ácido fosfórico a 0 ppm aumentan ligeramente en el espectro obtenido con desacoplamiento, como era de esperar. Tambien se puede afirmar que no parece que haya un acoplamiento muy fuerte (H1)-(P31). Nótese que los desplazamientos químicos del espectro de la *Figura 2.10* (-27,5; -20; -12 y -4 ppm) son ligeramente diferentes a los de la *Figura 2.7* (-28, -21, -14 y -6).

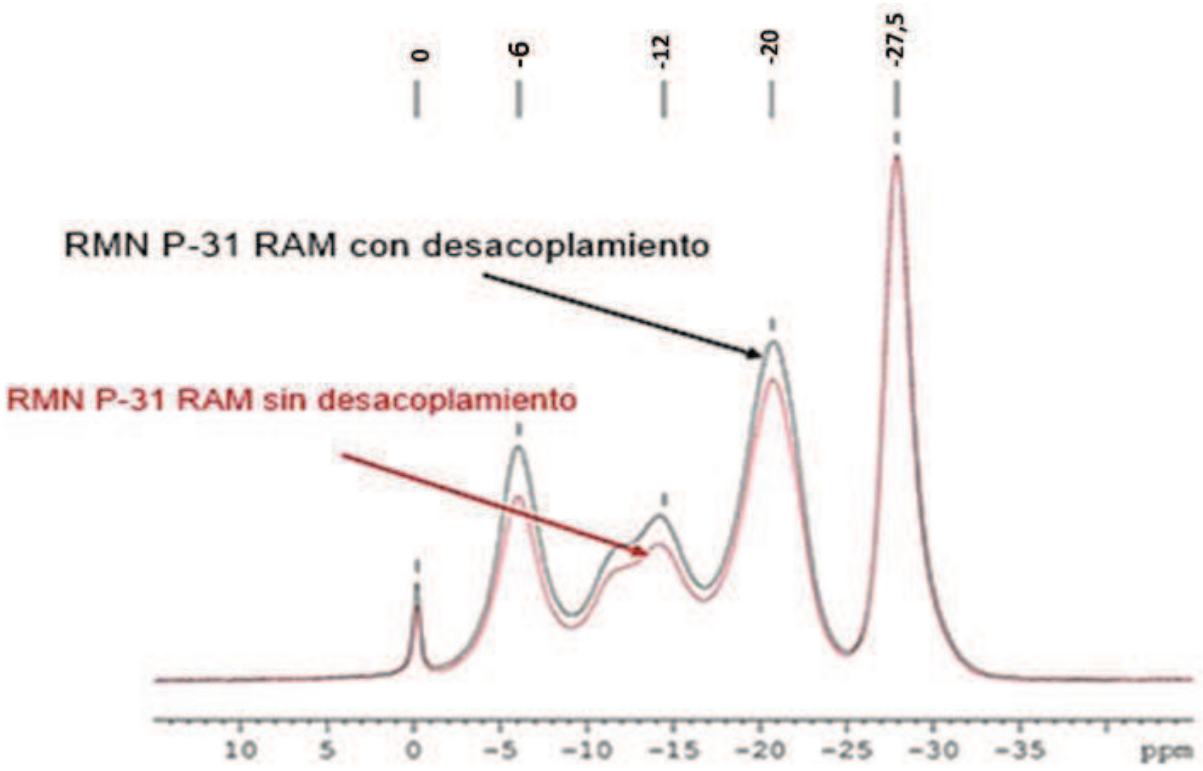


Figura 2.10. *Espectro de **RMN** de P-31 **RAM** en estado sólido con y sin desacoplamiento de protones de las **NPFT**.*

En la *Figura 2.11* se comparan los espectros de **RMN** P-31 **TPC-RAM**, obtenidos con diferentes tiempos de contacto, entre sí y también con el espectro de P-31 **RAM** obtenido con desacoplamiento de protón. Se puede ver que la intensidad de los picos asociados a los fosfatos ácidos, $(HPO_4)^{2-}$ y $(H_2PO_4)^{1-}$, es prácticamente independiente del tiempo de contacto. Con todo, hay una pequeña, pero apreciable, diferencia entre la señal atribuida a los hidrogenofosfatos a -20 ppm, misma intensidad para los distintos tiempos de contacto, y las intensidades de los picos atribuidos a los $(H_2PO_4)^{1-}$, a -12 y -4 ppm, que si se modifican levemente con el tiempo de contacto. Por su parte, el pico de $(PO_4)^{3-}$, a -27,5 ppm aumenta particularmente con un tiempo de contacto de 4 ms. Esto es lo que cabría esperar, los fosfatos ácidos tienen protones enlazados directamente, mientras que para los iones fosfato la transferencia de magnetización (H-1)-(P-31) se hace espacialmente desde los protones vecinos. Comparando los espectros **TPC-RAM** con el espectro con desacoplamiento de protones se aprecia el cambio relativo de intensidades, en el **TPC-RAM** dominan las señales de los fosfatos protonados frente a los no protonados. El ácido fosfórico no se ve en los espectros de **TPC-RAM** porque no está asociado

al entorno (lattice), es una molécula libre que tiene alta movilidad y, en estos casos, la eficiencia de la transferencia de magnetización (H-1)-(P-31) es muy baja.

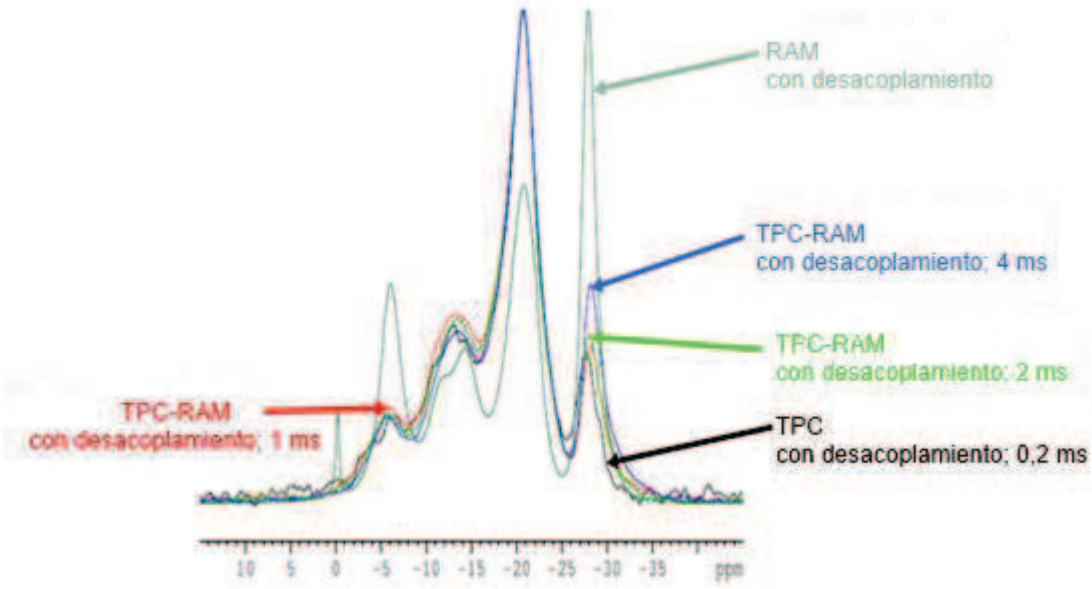


Figura 2.11. *Espectro **RMN** (P-31) **RAM** con desacoplamiento (verde oscuro) y **TPC-RAM** con desacoplamiento de protón y tiempo variable (negro: 0,2 ms; rojo: 1 ms; verde claro: 2 ms; azul: 4 ms).*

Otra conclusión interesante es que en la bibliografía[1] no se ha detectado la formacion del ácido fosfórico porque los únicos espectros presentados son los de **RMN** de P-31 "**TPC-RAM**", que, tal como se acaba de señalar, no detectan dicha señal.

La asignacion de las bandas a grupos $(HPO_4)^{2-}$ y $(H_2PO_4)^{1-}$ quedó confirmada al estudiarse las reacciones de las nanopartículas de **NPFT** con distintos cationes (Apartado *2.2)*

El espectro de infrarrojo de las **NPFT**, que no ha sido estudiado con detalle en la bibliografía[1, 3], se muestra en la *Figura 2.12*.

La banda ancha sobre 3431 cm^{-1} puede ser atribuida a la vibración de tensión O-H del agua absorbida físicamente en la superficie, que también origina una banda de deformación H-O-H a 1631 cm^{-1}. La presencia de agua en las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT**, también fue detectada por el **RMN** de protón (*Figura 2.9*).

La señal débil de 2960 cm^{-1} se debe a la vibración de tensión C-H de los grupos CH_2 que forman parte de las cadenas del surfactante (docusato sódico) presentes en la muestra, y detectadas por **RMN** de protón (*Figura 2.9*).

Sobre 1228 cm^{-1} aparece un hombro, debido a los hidrógenofosfatos y dihidrógenofosfatos, debido a la deformación en el plano de P-O-H[54-59] y una banda fuerte y

ancha que es característica de las vibraciones de tensión P=O a 1028 cm^{-1} debida a fosfatos, hidrógenofosfatos y dihidrógenofosfatos.[56, 60]

La zona de 500 a 700 cm^{-1} es una zona de difícil asignación pero que ha resultado muy útil para seguir los cambios que se producen en los enlaces metal-oxígeno al funcionalizar las nanopartículas con metales. El $NaTi_2(PO_4)_3$ [45] presenta señales de igual intensidad a 640 y 581 cm^{-1}, pero la de 581 cm^{-1} es más intensa que la de 640 cm^{-1} en la *Figura 2.12.* Ellos es debido a que la banda observada a 581 cm^{-1} debe incluir además vibraciones debidas al grupo HO-P=O de los fosfatos ácidos (mono- y dihidrógenofosfatos) [22, 57, 58, 59, 61, 62]. La señal de 508 cm^{-1} debe asignarse a las vibraciones del grupo PO_2 de los dihidrógenofosfatos.[62, 63]

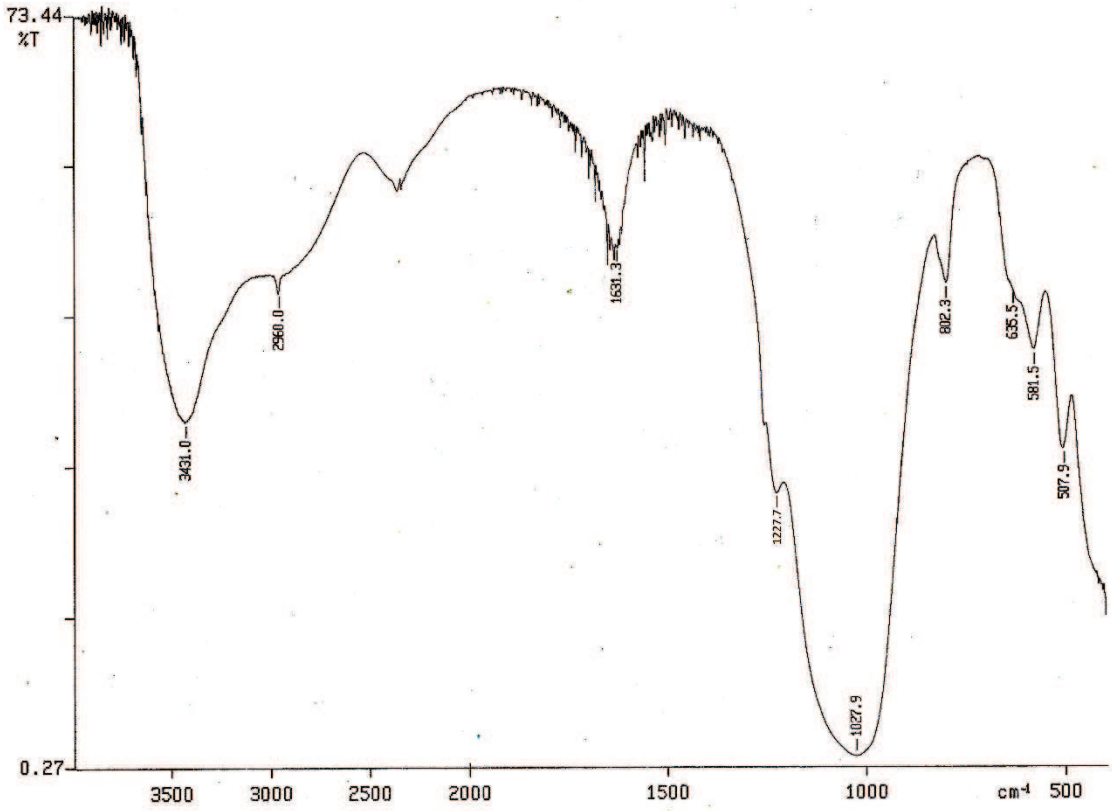


Figura 2.12. *Espectro de* ***IR*** *de las nanopartículas de fosfato de titanio,* ***NPFT****.*

2.1.2. Hidrólisis de las NPFT.

En la bibliografía no se ha encontrado referencia alguna al proceso de hidrólisis que hemos observado de las **NPFT**. En la *Figura 2.13 y Figura 2.14* puede seguirse la evolución de la hidrólisis con el tiempo mediante la resonancia de P-31 en estado sólido (**RAM**) con desacoplamiento de protones.

En la mayor parte de este trabajo se ha empleado casi exclusivamente esta técnica de **RMN** de P-31 **RAM**, que de ahora en adelante se denominará **RMN** de P-31 (s).

En la *Figura 2.13* se puede seguir la hidrólisis de **NPFT** en estado sólido al cabo de una semana y de 4 meses al aire. Nótese que en la superficie de las **NPFT** hay agua, detectada por **IR** y **RMN** de H-1(s), véase *Figura 2.9, Figura 2.12*, por lo que el inicio del proceso de hidrólisis no requiere presencia de agua del ambiente. Ahora bien, si se guarda la muestra cerrada herméticamente el proceso de hidrólisis apenas avanza.

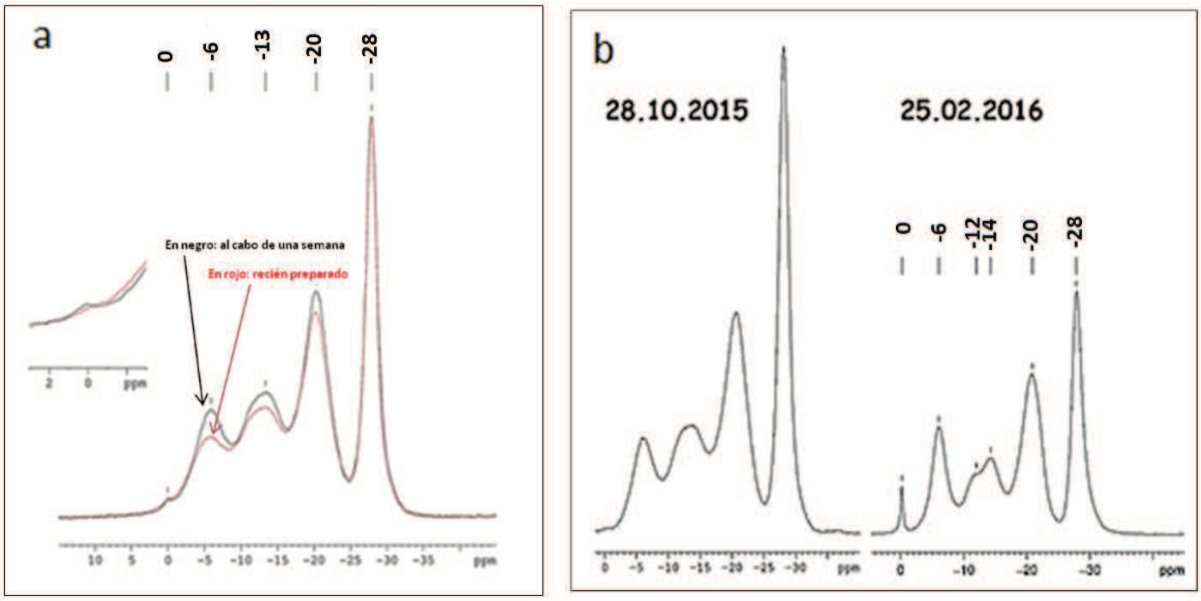


Figura 2.13. *Seguimiento del proceso de hidrólisis en estado sólido mediante **RMN** de P-31(s). Hidrólisis en estado sólido al cabo de una semana (a); hidrólisis al cabo de 4 meses (b).*

En los espectros de la *Figura 2.13-a*, se puede observar, en primer lugar, la aparición de una tenue señal a 0 ppm que antes no existía, debida a la aparición de ácido fosfórico, y un ligero aumento de intensidad de las señales de los dihidrógenofosfatos (a -6 y -13 ppm) y de la de los hidrógenofosfatos (a -20 ppm) (El montaje se ha hecho para que la intensidad a -28 ppm

se mantenga a la misma intensidad en los dos espectros). Esto sugiere que todas las especies presentes, $(PO_4)^{3-}$, $(HPO_4)^{2-}$ y $(H_2PO_4)^{1-}$, se han hidrolizado parcialmente.

En la *Figura 2.13-b* se recogen los espectros de P-31(s) de una misma muestra, a la izquierda, recién obtenida y, a la derecha, transcurridos cuatro meses y mantenida al aire a temperatura ambiente. Lo que señalan ambos espectros es que el proceso de hidrólisis en estado sólido es más complejo pues además de haber crecido la señal del ácido fosfórico (a 0 ppm) y disminuido la de $(PO_4)^{3-}$, la antigua señal a -13 ppm se ha desdoblado en dos, una a -12 ppm y la otra a -14 ppm. También hay un ligerísimo movimiento del pico debido a los hidrógenofosfatos que pasa de -20,3 a -20,8 ppm. (Una consecuencia de lo expuesto es que las señales del espectro de **RMN** de P-31 (s) de NPFT aparecen a -28, -20, -13 y -6 ppm).

En la *Figura 2.14* se puede seguir la hidrólisis de **NPFT** mantenidas en suspensión acuosa a 50 °C al cabo de 2 horas y 24 horas respectivamente mediante **RMN** de P-31 (s). Aquí las señales de los fosfatos ácidos disminuyen con el paso del tiempo. Además, el proceso es bastante rápido, pues los cambios en las dos primeras horas son mucho más grandes que en las 22 horas siguientes.

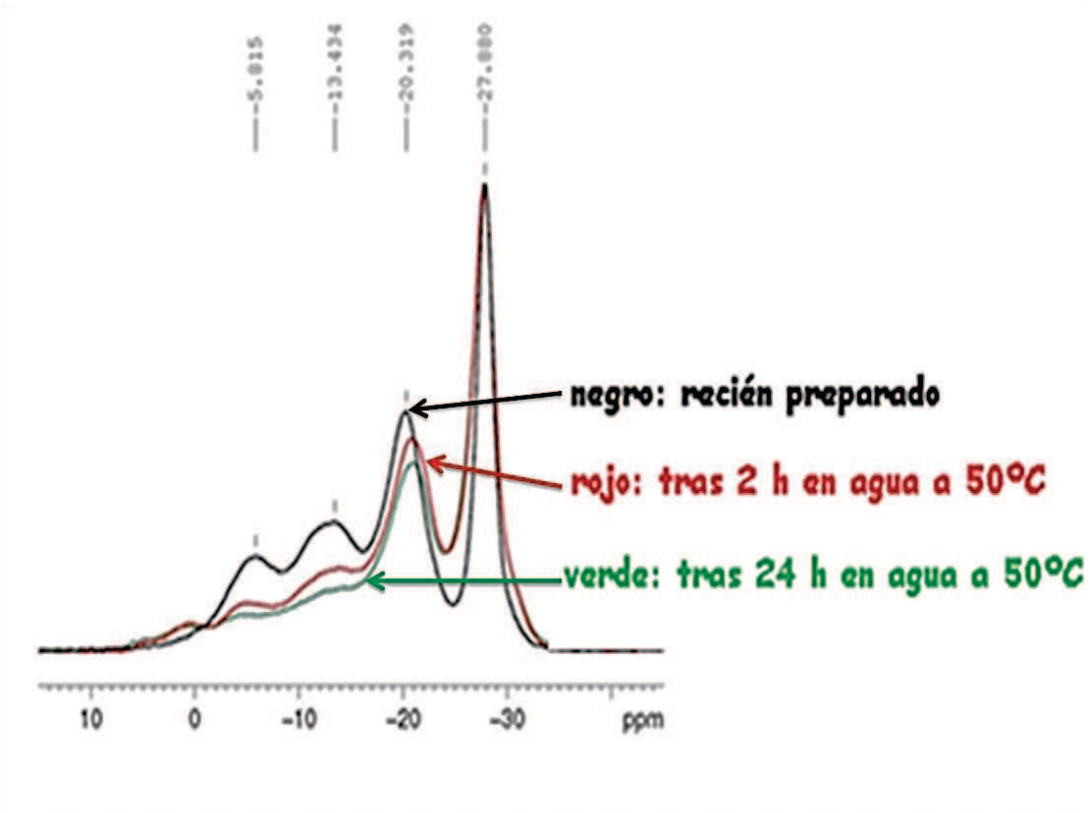


Figura 2.14. ***RMN*** *de P-31(s) de las* ***NPFT*** *tras ser calentadas en agua a 50 °C, al cabo de 2 h (rojo) y de 24 h (en verde).*

En un estudio separado, se ha medido el pH de una suspensión de **NPFT** (50 mg) en agua (21 mL) encontrándose que al cabo de 15 minutos se alcanza un pH de 2,65 (± 0,05) (tanto a temperatura ambiente como a 50 °C), pH que permanece constante dos horas después y aún dos días después (a temperatura ambiente y a 50 °C). Esto parece sugerir que el proceso de hidrólisis en disolución es muy rápido al principio y luego se ralentiza considerablemente.

La razón de que el pH de la suspensión de **NPFT** sea tan ácido es debido a la liberación de ácido fosfórico que pasa al agua, tal como indica el espectro de **RMN** de P-31 (en "disolución") de la suspensión que se obtiene al poner en contacto a temperatura ambiente 50 mg de **NPFT** en 2,25 mL de D_2O. Las señales a -21 y -27 ppm pueden ser debidas a los fosfatos e hidrógenofosfatos de las **NPFT** hidrolizadas.

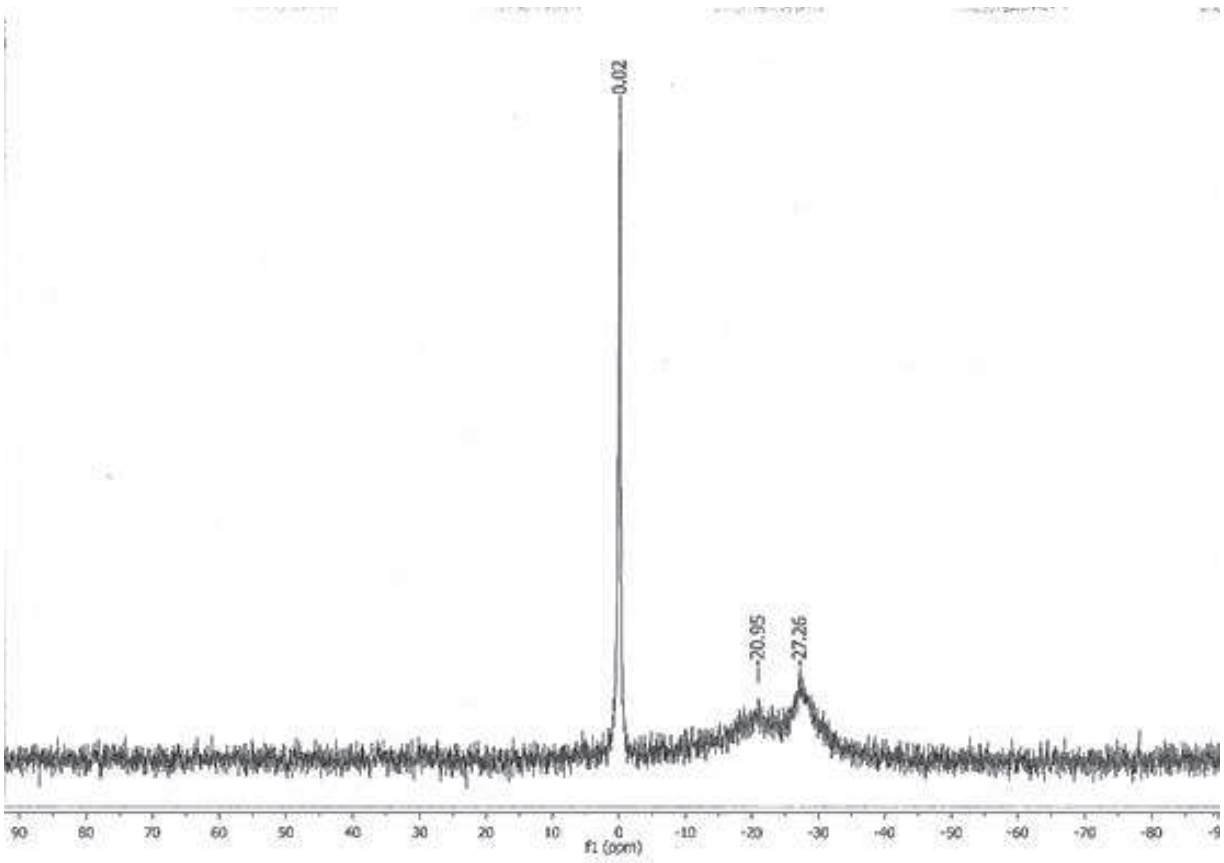


***Figura 2.15. RMN** de P-31 de la suspensión de **NPFT** en D_2O.*

La formación de ácido fosfórico que pasa al agua durante el proceso de hidrólisis explicaría la disminución de intensidad de las bandas de **RMN** de P-31(s) de las nanopartículas sólidas del "**NPFT** hidrolizado" observadas en la *Figura 2.14*.

Como luego se van a llevar a cabo reacciones de las **NPFT** con distintas sales metálicas en agua a 50 °C, se decidió estudiar las nanopartículas que resultan tras calentar las **NPFT** dos horas en agua a 50 °C, de ahora en adelante **NPFT-H**, mediante **MET**, **IR** y difracción de Rayos X de polvo.

En las micrografías **MET** no se observa modificación de la morfología, las nanopartículas son cuasi-esféricas y presentan un diámetro medio de 30 nm, exactamente 31 ± 3 nm, véase *Figura 2.16.*

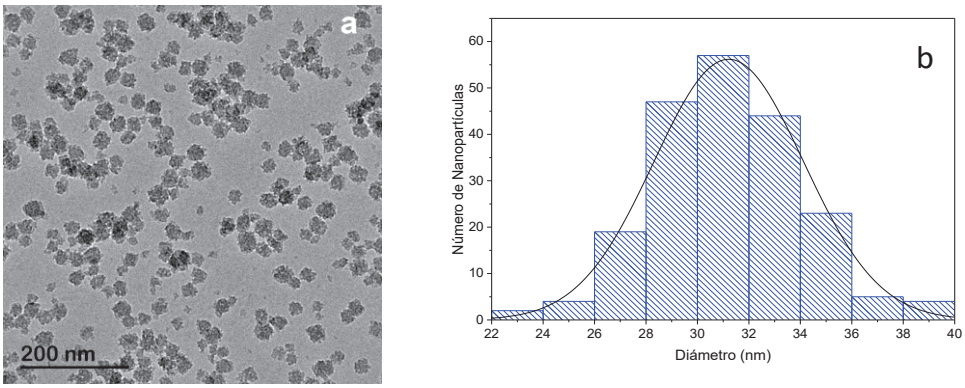


Figura 2.16. *Micrografía **MET** de las nanopartículas de fosfato de titanio suspendidas en agua durante 2 horas, **NPFT-H** (a), y su distribución de tamaño (b).*

En cuanto a la composición de las nanopartículas **NPFT-H** lo más significativo es el claro descenso en la concentración de sodio al pasar de **NPFT** a **NPFT-H**, (de 0,43 %Na/%Ti a 0,17 %Na/%Ti) como se puede ver en la Tabla 2.2. La concentración de fósforo también parece haber disminuido como era de esperar (de 2,58 %P/%Ti a 1,79 %P/%Ti) pues los fosfatos insolubles de **NPFT** han pasado a H_3PO_4 soluble en agua y por tanto han sido eliminados con las aguas de lavado, pero estadísticamente no es tan evidente por las desviaciones estándar en los % de P. En todo caso, la disminución del % de sodio en **NPFT-H** reflejado en la *Tabla 2.2* apunta a que la hidrólisis alcanza incluso a la fase cristalina, al trifosfato de dititanio y sodio, $NaTi_2(PO_4)_3$.

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37
NPFT-H	66,67 ± 3,37	1,95 ± 0,58	20,17 ± 2,16	11,22 ± 1,37

Tabla 2.2. *Composición media (% átomos) de las nanopartículas de fosfato de titanio,* ***NPFT****, y de las mismas suspendidas en agua durante 2 horas,* ***NPFT-H****.*

El espectro de **IR** de **NPFT-H**, mostrado en la *Figura 2.17-b,* es semejante al espectro de las **NPFT**, *Figura 2.17-a*, pero se aprecia una disminucion de intensidad en la banda a 581 y 510 cm^{-1} en el espectro de **NPFT-H**. Como se recordará, esta bandas tienen una fuerte contribución debida a los fosfato ácidos. Su menor intensidad en el espectro de **NPFT-H** está en consonanacia con la disminucion de intensidades de las señales de los grupos $(H_2PO_4)^{1-}$ y $(HPO_4)^{2-}$ detectadas en el espectro de **RMN** de P-31(s) de la *Figura 2.14.* También desaparece prácticamente la banda a 802 cm^{-1}.

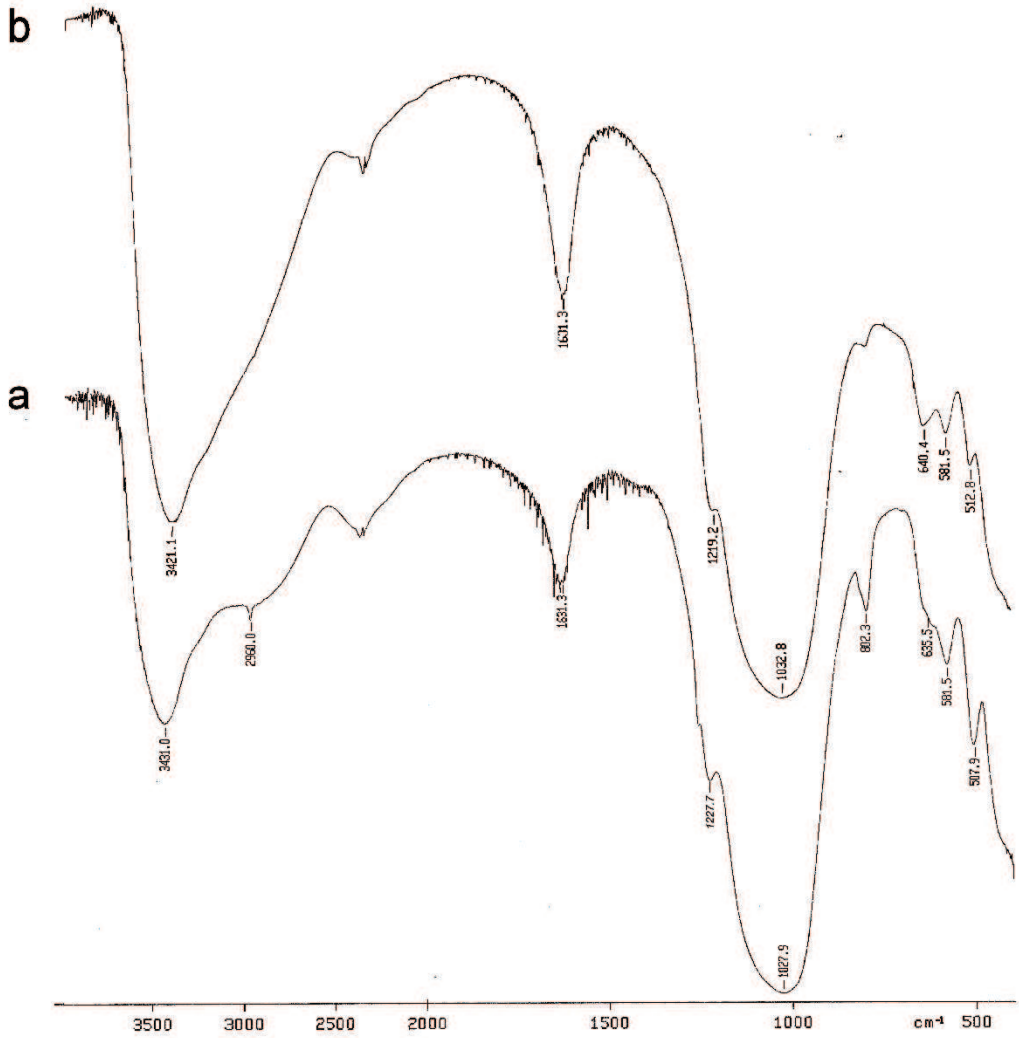


Figura 2.17. *Espectro **IR** de las nanopartículas de fosfato de titanio, **NPFT** (a) y de las nanopartículas de fosfato de titanio suspendidas en agua durante 2 horas a 50 °C, **NPFT-H** (b).*

Por su parte, la fase de $NaTi_2(PO_4)_3$ de **NPFT-H**, cuyo difractograma se muestra en la *Figura 2.18-b,* presenta un grado de cristalinidad inferior al observado en la muestra original, *Figura 2.18-a,* y además exhibe un nuevo pico muy pequeño a $2\theta \approx 18$ lo que indica que, cuanto menos, la hidrólisis supone una notable reorganización estructural en el interior de las nanopartículas **NPFT**. En la *Figura 2.19* se pueden comparar los picos más intensos de **NPFT-H** con los de **JCPDS** Nº 33-1296, observándose más claramente una mayor desviación de la fase original

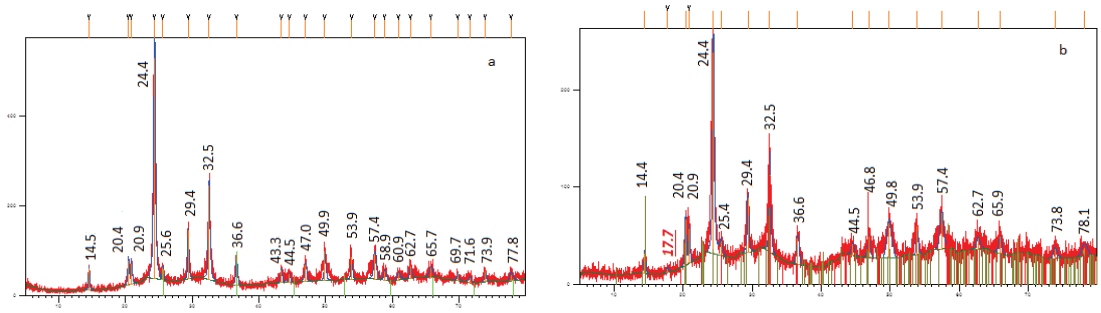


Figura 2.18. *Difractograma de rayos X de las nanopartículas de fosfato de titanio,* ***NPFT*** *(a), y* ***NPFT*** *suspendidas en agua durante 2 horas,* ***NPFT-H*** *(b).*

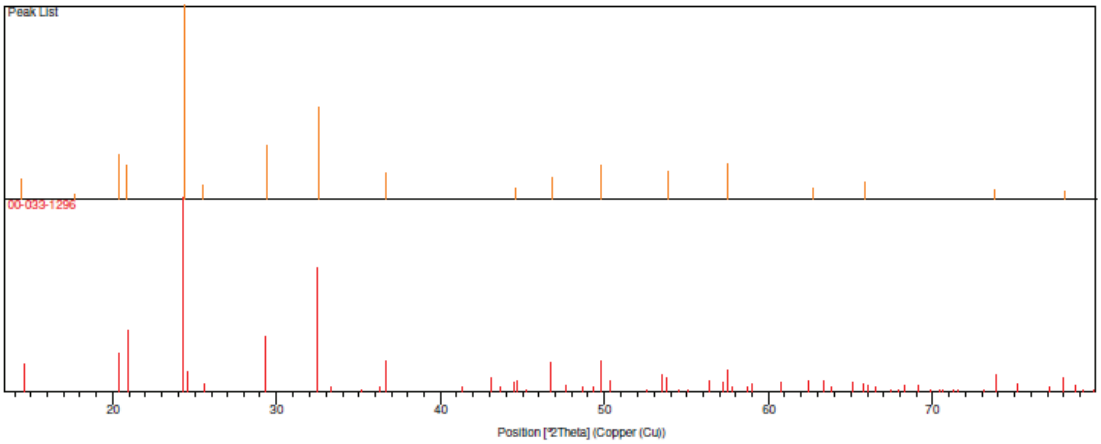


Figura 2.19. *Comparación picos de difractograma de* ***DRX*** *de* ***NPFT-H*** *y* $NaTi_2(PO_4)_3$ *(JCPDS 33-1296).*

La difracción de electrones de **NPFT-H** (véase *Figura 2.20*) asociada a las medidas **MET** da separaciones interplanares a 3,00; 3,62 y 4,23 Å que corresponden a valores de 2θ de 29,8; 24,6 y 21° en difracción de rayos X, confirmando parcialmente la persistencia de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ tras la hidrólisis.

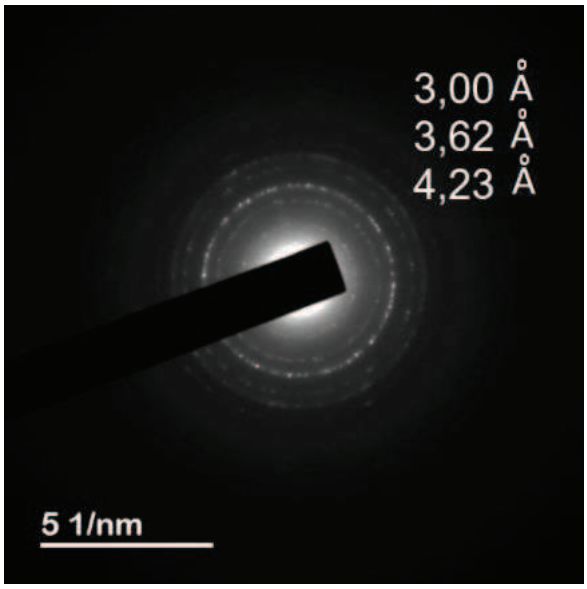


Figura 2.20. *Difracción de electrones de* ***NPFT-H****.*

2.2. Incorporación de cationes metálicos a las NPFT

Como se ha señalado en la introducción, [2,3] las **NPFT** son capaces de incorporar cationes metálicos. El proceso consiste, al menos en una primera aproximación, en un intercambio de protones por cationes.[26] Este intercambio se da ya a temperatura ambiente tal como pone de manifiesto el hecho de que al agitar durante 5 días disoluciones acuosas de sales metálicas, 2,1 mmoles en 17 mL de agua mQ, sobre las que se han añadido **NPFT** (40 mg) el pH resultante es menor que el que se mide si sólo se agita 40 mg de **NPFT** en 17 mL de agua mQ (*Tabla 2.3*). Especialmente significativo es que los iones cuyos fosfatos son muy insolubles den unos pH particularmente bajos, pues parece que la formación de sales insolubles es lo que fuerza la sustitución de más protones por iones.[26] El caso de la plata es diferente porque, como se verá más adelante, la plata se reduce a plata metálica durante el proceso.

Sal Metálica	pH	K_{ps} Fosfato
$Hg(NO_3)_2.H_2O$	1,65	$8{,}00.10^{-46}$
$Pb(NO_3)_2$	1,70	$7{,}9.10^{-43}$
$Cu(NO_3)_2$	2,27	$1{,}4.10^{-37}$
$AgNO_3$	2,32	$8{,}89.10^{-17}$
$Cd(NO_3)_2.4H_2O$	2,36	$2{,}53.10^{-33}$
$CaCl_2$	2,43	$2{,}07.10^{-33}$
$Mg(NO_3)_2$	2,45	$1{,}04.10^{-24}$
$MgCl_2$	2,46	$1{,}04.10^{-24}$
NaCl	2,50	----------
KCl	2,60	----------
$LiNO_3$	2,60	$2{,}37.10^{-11}$
-------	2,70	----------

Tabla 2.3. *Medidas de pH del sobrenadante de una suspensión obtenida al añadir 50 mg de* ***NPFT*** *sobre una disolución de una sal metálica (2,1 mmoles) en 21 mL de agua, tras 5 días de agitación a temperatura ambiente.*

De todos los posibles cationes con que se pueden cargar las **NPFT**, se han escogido los iones Cd^{2+}, Hg^{2+}, Cu^{2+} y Ag^{+1} por ser electroquímicamente activos, y por tanto de mayor utilidad para el grupo del Prof. A. Costa García. Nanopartículas de fosfato de titanio cargadas con Cd^{2+}, obtenidas por tratamiento con nitrato de cadmio (II), han sido descritas con anterioridad, aunque no fueron caracterizadas con detalle.[2,3]

2.2.1. Derivados de las NPFT con Cadmio.

En primer lugar, se buscaron las mejores condiciones experimentales para introducir Cd^{2+} en las **NPFT** (tomando como punto de partida las proporciones descritas en la bibliografía[2,3]). En particular se probaron las tres siguientes:

I. **NPFT** (40 mg) sobre disolución 10 mM de $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ en 17 mL H_2O a t.a., 24 h.
II. **NPFT** (40 mg) sobre disolución 20 mM de $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ en 17 mL H_2O a t.a., 24 h.
III. **NPFT** (40 mg) sobre disolución 10 mM de $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ en 17 mL H_2O a 50 °, 24 h

Se obtuvieron **NPFT-Cd-1-TA-1**, **NPFT-Cd-1-TA-2** y **NPFT-Cd-1** respectivamente.

Pues bien, los tres compuestos obtenidos son muy similares. Así, el formato y la distribución de tamaños, obtenidos por **MET**, es muy semejante aunque no coincidente (Figura 2.21). Las fluctuaciones en los datos microanalíticos detectados por **EDE** (**MET**) no son significativos (Tabla 2.4) y lo mismo ocurre con los datos de difracción de electrones (*Figura 2.22*) o los espectros de infrarrojo (*Figura 2.23*). Con todo lo más llamativo es que la proporción Cd/Ti apenas varía con el método empleado (0,095; 0,089 y 0,093) sobre todo teniendo en cuenta las muy distintas condiciones de reacción. Sin embargo de todas ellas la reacción a 50 °C era la que conducía a menores problemas de aislamiento por lo que se escogió como la más adecuada. Por ello se decidió hacer todas las reacciones de incorporación de iones metálicos en esas mismas condiciones.

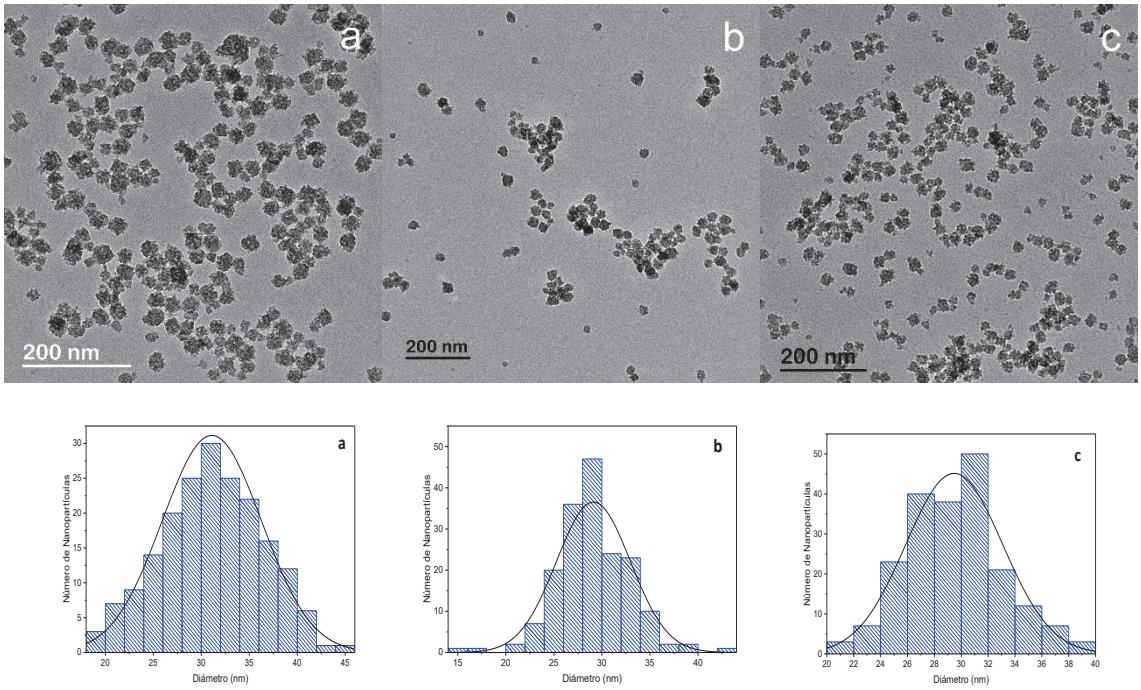


Figura 2.21. Micrografías **MET** de las nanopartículas funcionalizadas con nitrato de cadmio 10 mM y a 50 °C (a); 10 mM y temperatura ambiente (b) y 20 mM a temperatura ambiente (c) y su correspondientes distribuciones de tamaño.

	O (%)	**Na (%)**	**P (%)**	**Ti (%)**	**Cd (%)**
NPFT-Cd-1	65,56 ± 1,32	2,36 ± 0,01	20,54 ± 1,10	10,52 ± 0,25	1,02 ± 0,03
NPFT-Cd-1-TA-1	64,23 ± 3,85	4,04 ± 0,04	19,02 ± 1,50	11,68 ± 2,26	1,04 ± 0,13
NPFT-Cd-1-TA-2	66,98 ± 2,76	2,20 ± 0,13	18,37 ± 1,97	11,40 ± 0,38	1,06 ± 0,27

Tabla 2.4. *Composición media (**MET**) (% átomos ± desviación estándar) de **NPFT-Cd-1**; **NPFT-Cd-1-TA-1**; **NPFT-Cd-1-TA-2**.*

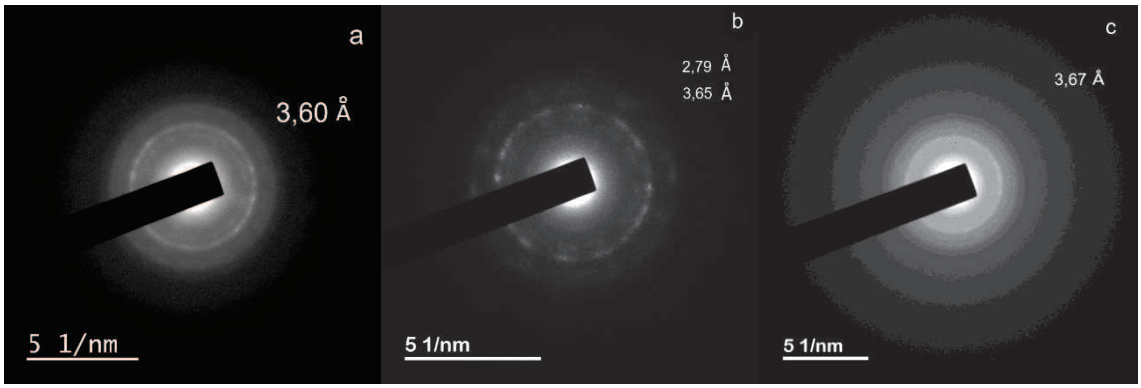


Figura 2.22. *Difracción de electrones de las muestras preparadas a temperatura ambiente, y modificadas con nitrato de cadmio tetrahidratado,* ***NPFT-Cd-1*** *(a),* ***NPFT-Cd-1-TA-1*** *(b)* ***NPFT-Cd-1-TA-2*** *(c).*

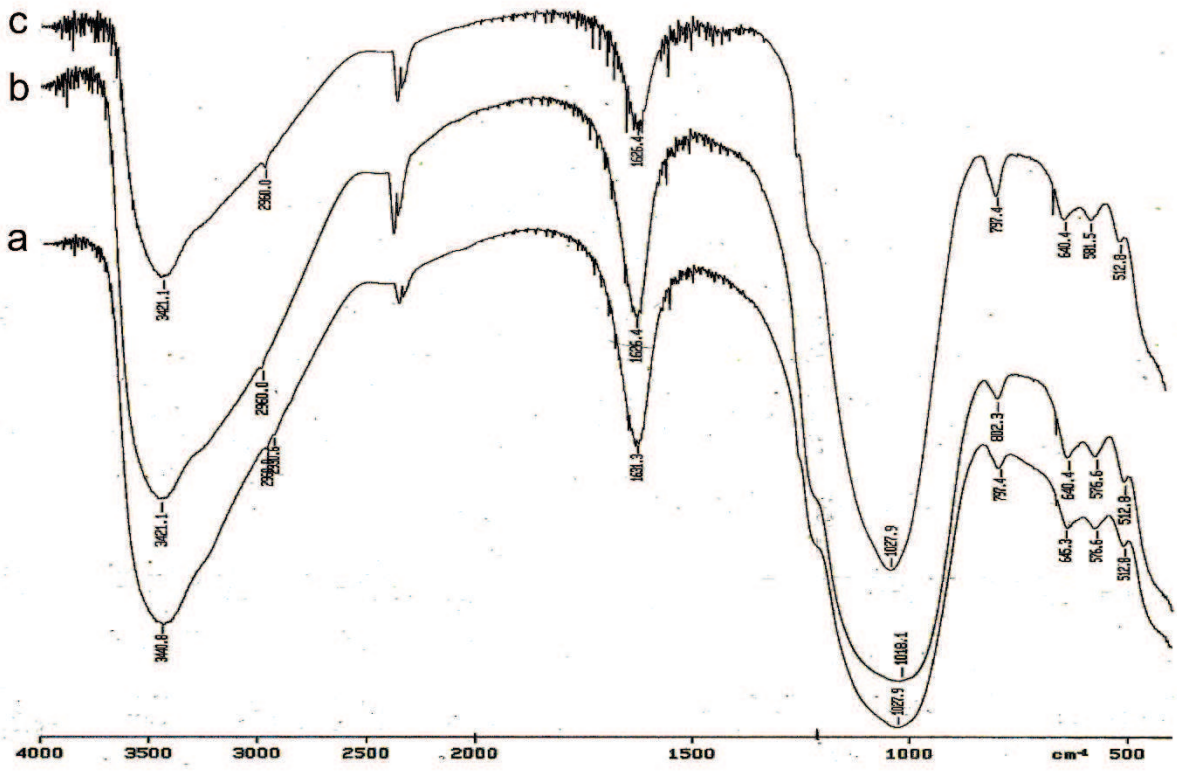


Figura 2.23. *Espectros de* ***IR*** *de* ***NPFT-Cd-1*** *(a);* ***NPFT-Cd-1-TA-1*** *(b);* ***NPFT-Cd-1-TA-2*** *(c).*

A continuación se discute con más detalle la preparación y caracterización de **NPFT-Cd-1.**

2.2.1.1. NPFT-Cd-1:

Tras adicionar 40 mg de **NPFT** sobre una disolución de $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ (52 mg, 0,17 mmoles) en 17 mL agua mQ, se calienta la suspensión a 50 °C durante 24 horas (método III del apartado anterior) obteniéndose nanopartículas de Fosfato de Titanio modificadas con cationes de cadmio, las denominadas **NPFT-Cd-1**.[1]

Como se aprecia en las micrografías obtenidas por **MET**, las nanopartículas preparadas mantienen su morfología cuasi-esférica y su tamaño inicial; 31±5 nm de **NPFT-Cd-1**, *Figura 2.24,* frente a los 30±5 nm de las **NPFT** (véase *Figura 2.2*).

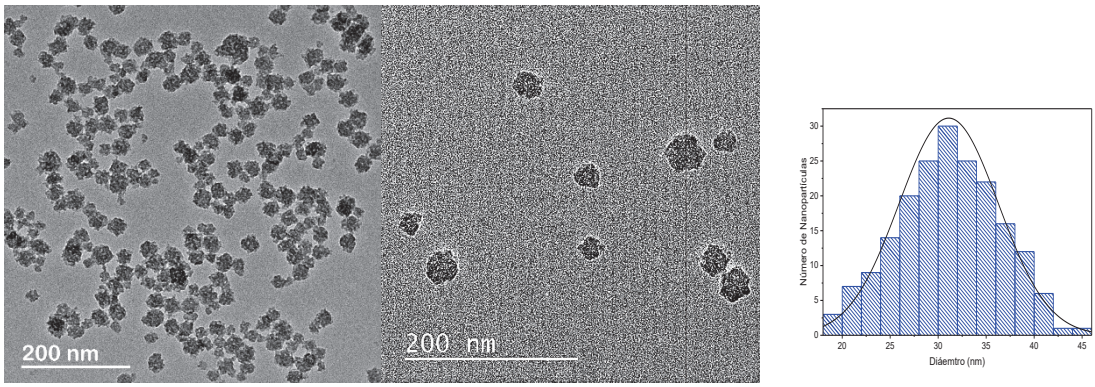


Figura 2.24. *Micrografías* ***MET*** *de* ***NPFT-Cd-1*** *y su distribución de tamaño.*

La relación cadmio/titanio para el material funcionalizado con nitrato de cadmio tetrahidratado es 0,10, véase *Tabla 2.5*. La presencia de Cd^{2+} ha sido confirmada por medidas electroquímicas en el grupo de investigación del Prof. A. Costa García y recogidas en la Tesis Doctoral del Dr. Daniel Martín Yerga. Según tales medidas la cantidad de cadmio es de 0,45 ± 0,05 mmoles Cd/g nanopartículas en **NPFT-Cd-1**.

[1] Dadas las mínimas cantidades de reactivo empleadas (alrededor de 40 mg) y el carácter pulverulento de los productos obtenidos que quedaban adheridos a las paredes de los matraces, los intentos de obtener los rendimientos de esta y otras reacciones similares con valores significativos resultaron infructuosos.

Cuando se repitieron las reacciones a escalas más altas, entre 100 y 150 mg de **NPFT** se pueden calcular más fácilmente los rendimientos teniendo en cuenta (además) la cantidad de metal medido electroquímicamente (88 % para **NPFT-Cd-1**; 71 % para **NPFT-Cd-2**; 51 % para **NPFT-Cd-3**; 84 % para **NPFT-Hg-2**; 81 % para **NPFT-Cu-2** y 58 % para **NPFT-Ag-1**).

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)	pH
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37	0,00	2,70
NPFT-Cd-1	65,56 ± 1,32	2,36 ± 0,01	20,54 ± 1,10	10,52 ± 0,25	1,02 ± 0,03	2,47

Tabla 2.5. *Composición media (% átomos ± desviación estándar) de* ***NPFT, NPFT-Cd-1.***

Los espectros **IR** de las nanopartículas obtenidas se muestran en la *Figura 2.25*. En primer lugar, es reseñable que el espectro no muestre señal alguna atribuible al anión nitrato, cuyas bandas aparecen entre 1300 y 1400 cm^{-1}. Ello significa que no quedan restos de la sal metálica empleada ni en el interior ni en la superficie de **NPFT-Cd-1**, ni el anión actúa de ligando del metal; tras el intercambio, el ácido nítrico formado y el exceso de sal utilizada fueron eliminados en los posteriores lavados con agua.

Por otra parte, se pueden distinguir una banda ancha a 3441 cm^{-1} debida a la vibración de tensión O-H del agua absorbida físicamente en la superficie, que además origina una banda de deformación H-O-H a 1640 cm^{-1}. La señal débil de 2960 cm^{-1}, atribuible a la tensión C-H alquílica, se debe a pequeñas cantidades del surfactante (docusato sódico), presentes en la muestra.

La banda a 1227 cm^{-1}, debida a la deformación en el plano del grupo P-O-H[54-59], se ha desdibujado; lo que tiene pleno sentido si se ha producido el intercambio de protones por iones cadmio.

Con todo, la zona 500-700 cm^{-1} resultó ser el intervalo más interesante para seguir el intercambio de protones por iones Cd^{2+}. En primer lugar, subsiste la señal de 640 cm^{-1} atribuida al núcleo de $NaTi_2(PO_4)_3$, lo que sugiere que, al menos en parte, el núcleo cristalino debiera permanecer inalterado. La señal a 581 cm^{-1} disminuye claramente de intensidad en **NPFT-Cd-1**, lo que es de esperar dado que en ella la contribución debida a las vibraciones debidas al grupo HO-P=O de los fosfatos ácidos[22, 57, 58, 59, 61, 62] debe ser menor. Más drástica es la reducción de intensidad de la banda a 510 cm^{-1} asignada a vibraciones del grupo PO_2 de los dihidrógenofosfatos.[62, 63]

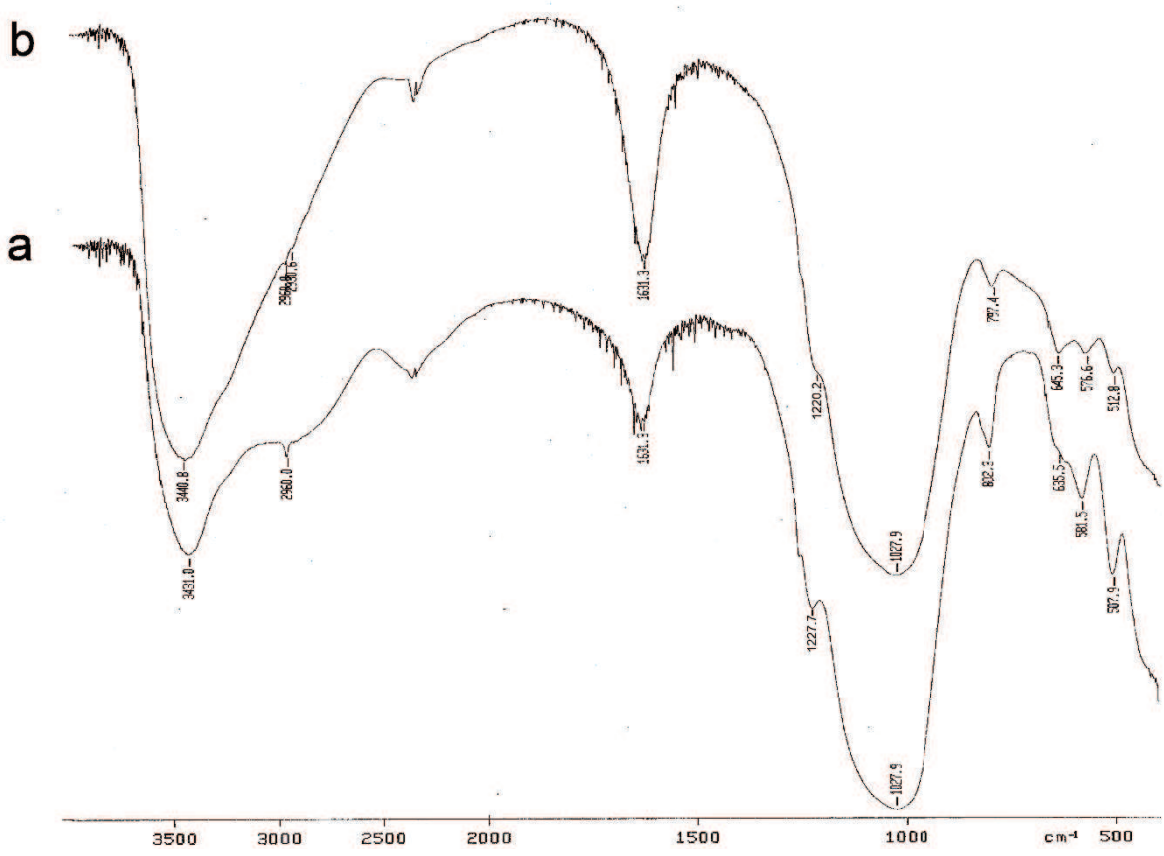


Figura 2.25. *Espectro* ***IR*** *de* ***NPFT*** *(a) y* ***NPFT-Cd-1*** *(b).*

La permanencia de un núcleo cristalino en la formación de **NPFT-Cd-1** también se aprecia en el espectro de **RMN** de P-31(s) ya que presenta una señal intensa a -27 ppm.

Comparando el espectro de **NPFT**, ver *Figura 2.26-a***,** con el del **NPFT-Cd-1**, se comprueba que las señales atribuidas a los dihidrógenofosfatos a -6 ppm, -13 ppm han decrecido de manera notoria, mientras que la atribuida al hidrogenofosfato, a campos más altos apenas ha disminuido de intensidad. Esta diferencia en la disminución de intensidad es razonable si se tiene en cuenta que los dihidrógenofosfatos son más ácidos y, por lo tanto, serán los primeros que intercambiarán sus protones. Esto supone, además, una confirmación indirecta de que la señal a -6 ppm es debida a los dihidrógenofosfatos, tal como indicaban los estudios de **RMN** iniciales.

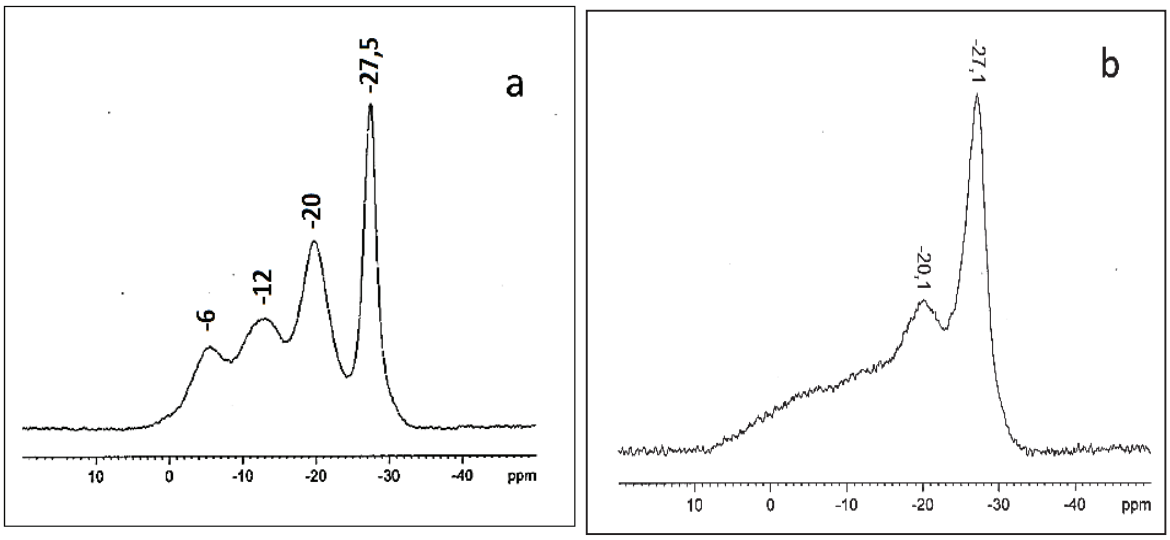


Figura 2.26. *Espectros de* ***RMN*** *P-31 (s) de* ***NPFT*** *(a) y* ***NPFT-Cd-1*** *(b).*

La subsistencia de un núcleo cristalino debería comprobarse fácilmente mediante difracción de rayos X de polvo. El difractograma recogido en la *Figura 2.27*, confirma que la fase cristalina se mantiene en **NPFT-Cd-1**, donde se aprecia claramente las señales de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$, pero la muestra ha perdido bastante cristalinidad y presenta alguna señal más, por ejemplo un pico a $2\theta \approx 18$.

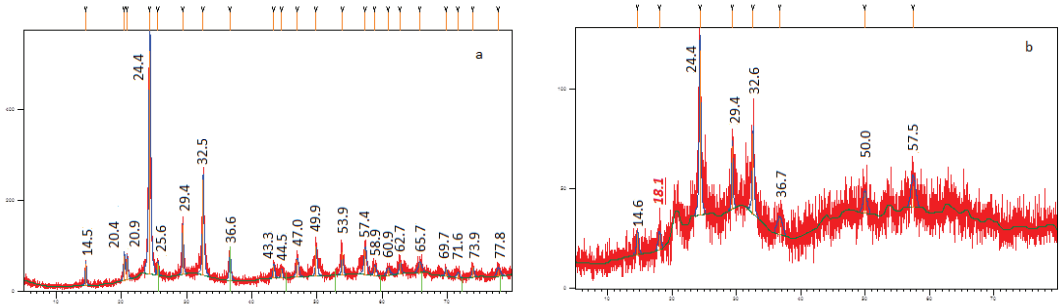


Figura 2.27. *Difractogramas de Rayos X de* ***NPFT*** *(a) y* ***NPFT-Cd-1*** *(b).*

El hecho de que ni al doblar la concentración de la sal de nitrato de cadmio tetrahidratado empleada a temperatura ambiente (reacción II) ni aumentando la temperatura de reacción (reacción III) se conseguía introducir una mayor cantidad de ión metálico en las nanopartículas de Fosfato de Titanio, y la observación de que las nanopartículas que han incorporado cationes cadmio (II) liberan iones Cd^{2+} en medio ácido[2, 6] sugieren que la reacción de intercambio sigue un proceso de equilibrio semejante al expresado en la ecuación 1.1 de la introducción, es decir,

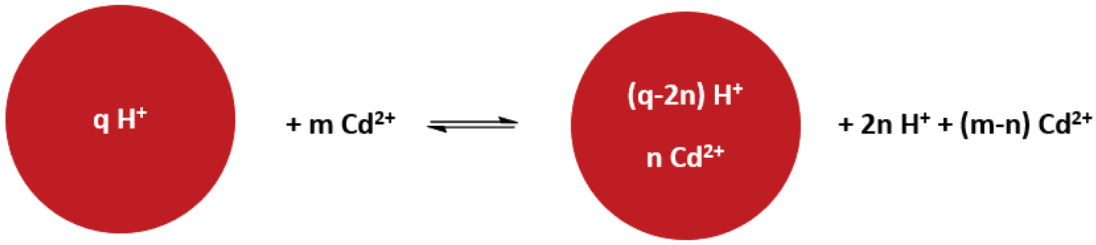


Figura 2.28. *(Ecuación 2.1). Esquema equilibrio protones-cationes en* ***NPFT****.*

Por ello, parecía que un camino sencillo para aumentar la concentración de cadmio en las nanopartículas podría ser la utilización de sales de cadmio cuyos aniones fuesen bases conjugadas de ácidos débiles capaces de consumir protones y por tanto desplazar el equilibrio hacia la derecha. Lo que en efecto ocurre cuando se emplean acetato y acetilacetonato de cadmio, tal como se expone a continuación.

2.2.1.2. NPFT-Cd-2 y NPFT-Cd-3:

Tras calentar a 50 °C durante 24 horas las suspensiones que resultan al añadir 40 mg de **NPFT** sobre sendas disoluciones acuosas de $Cd(CH_3COO)_2.2H_2O$ (45 mg, 0,17 mmoles) y $Cd(acac)_2$ (53 mg, 0,17 mmoles) en 17 mL agua mQ se obtuvieron **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3**, respectivamente, nanopartículas de fosfato de titanio con diversas concentraciones de cadmio.

Como se aprecia en las micrografías obtenidas por **MET**, las nanopartículas preparadas mantienen su morfología cuasi-esférica y su tamaño inicial, *Figura 2.29 y Figura 2.30* . En estas figuras se han incluido los datos obtenidos para **NPFT-Cd-1** a efectos comparativos.

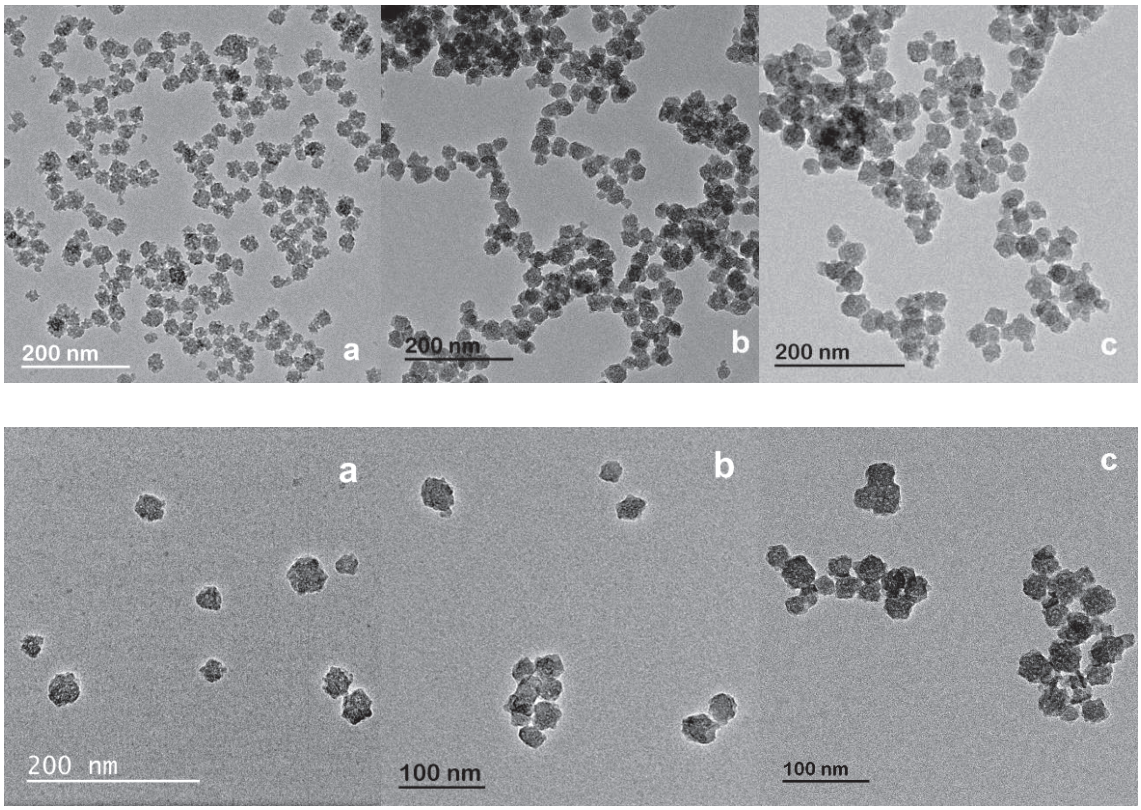


Figura 2.29. *Micrografías **MET** de las nanopartículas funcionalizadas con sales de cadmio (II). Con $Cd(NO_3)_2.4H_2O$, (a) con $Cd(CH_3COO)_2.2H_2O$ (b) y $Cd(acac)_2$ (c) .*

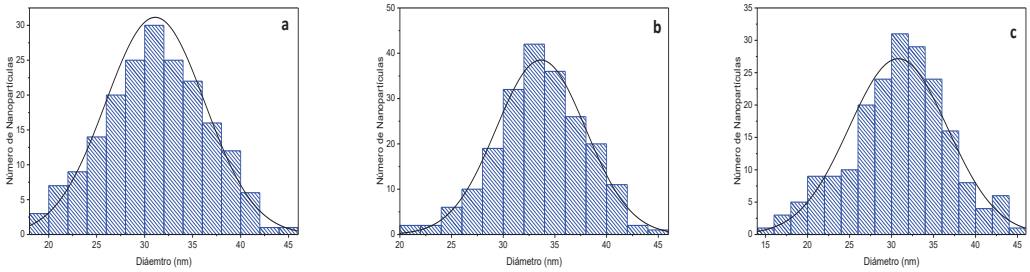


Figura 2.30. *Distribución de tamaños de las nanopartículas funcionalizadas con Cd^{2+}.* ***NPFT-Cd-1*** *(a)* ***NPFT-Cd-2*** *(b) y* ***NPFT-Cd-3*** *(c).*

La concentración de cadmio en las muestras ha sido medida semicuantitativamente mediante el **EDE** asociado al **MET**. Como se puede apreciar en la *Tabla 2.6* esta concentración varia sensiblemente con el anión utilizado, siendo la concentración tanto más alta cuanto más básico es el anión utilizado. La relación cadmio/titanio para el material funcionalizado con nitrato, acetato y acetilacetonato de cadmio es 0,10; 0,93 y 1,33 respectivamente. El aumento en el % de Cd ha sido confirmado por medidas electroquímicas en el laboratorio del Prof. A. Costa García y recogidas en la Tesis Doctoral del Dr. Daniel Martín Yerga[2]. Según tales medidas la cantidad de cadmio pasa de 0,45±0,05 mmoles Cd/g nanopartícula en **NPFT-Cd-1** a 1,8±0,2 mmoles Cd/g nanopartícula en **NPFT-Cd-2**. El aumento ha sido del 400%. En el caso de **NPFT-Cd-3**, el aumento de la cantidad de cadmio es hasta 3,9±0,2 mmoles Cd/g nanopartículas (del 866,6 % con respecto a **NPFT-Cd-1**).

El aumento de concentración de cadmio (II) al incrementarse la basicidad del anión se entiende bien si se tiene en cuenta que los aniones acetato y acetilacetonato desplazan hacia la derecha el equilibrio de la *Figura 2.28* (para formar ácido acético y 2,4-pentanodiona) de forma proporcional a su basicidad. De hecho, el pH de la suspensión al finalizar la reacción resultó ser 2,47 cuando se usó nitrato de cadmio (II) tetrahidratado, 4,29 cuando se empleó $Cd(CH_3COO)_2.2H_2O$ y 5,73 al utilizar el anión acetilacetonato, que cuadra muy bien con la presencia de ácido nítrico, ácido acético y acetilacetona en la suspensión final.

[2] Secciones 8.2.4 y 8.2.5

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)	pH
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37	0,00	2,70
NPFT-Cd-1	65,56 ± 1,32	2,36 ± 0,01	20,54 ± 1,10	10,52 ± 0,25	1,02 ± 0,03	2,47
NPFT-Cd-2	67,39 ± 0,39	1,59 ± 0,28	17,04 ± 0,10	7,26 ± 0,15	6,72 ± 0,12	4,29
NPFT-Cd-3	62,41 ± 2,96	2,21 ± 0,33	18,07 ± 1,20	7,43 ± 0,60	9,88 ± 1,13	5,73

Tabla 2.6. *Composición media (% átomos ± desviación estándar) de* ***NPFT, NPFT-Cd-1, NPFT-Cd-2*** *y* ***NPFT-Cd-3.***

Los espectros **IR** de las nanopartículas obtenidas se muestran en la *Figura 2.31*. En primer lugar, es reseñable que en todos los casos, el espectro no muestre señal alguna atribuible al anión de la sal empleada. Así en el espectro de **NPFT-Cd-1**, recogido en la *Figura 2.31-b*, la zona de 1300-1400 cm^{-1}, donde aparecen las bandas más intensas características de los iones nitrato, se encuentra totalmente limpia, como ya se comentó en la *sección 2.2.1.1.* De forma similar, en el espectro de **NPFT-Cd-2**, *Figura 2.31-c*, en la zona de 1400-1500 cm^{-1}, no hay bandas características de los iones acetato. Finalmente, en el espectro de **NPFT-Cd-3**, mostrado en la *Figura 2.31-d* en la zona en torno a 1400 cm^{-1}, no hay bandas atribuibles al ion acetilacetonato. Esto significa que tras el intercambio, tanto ácido nítrico como el ácido acético o acetilacetona formados y el exceso de sal utilizada fueron eliminados en los posteriores lavados con agua. Además, tampoco puede existir sal metálica en el interior de las nanopartículas ni puede haber nitratos, acetatos o acetilacetonatos actuando como ligandos L del metal (P-O-M-L) (L = NO_3^-, CH_3COO^-, $(CH_3C(O)CHC(O)CH_3)^-$).

Por otra parte, en los tres espectros aparece una banda hacia 3440 cm^{-1}, debida a la vibración de tensión del grupo –OH del agua absorbida físicamente en la superficie, que además origina una banda de deformación H-O-H a 1625 cm^{-1}. La señal débil de 2960 cm^{-1}, atribuible a la tensión C-H alquílica, se debe a pequeñas cantidades del surfactante (docusato sódico), todavía presentes en la muestra.

En todos ellos se ha desdibujado la banda a 1220 cm^{-1}, debida a la deformación en el plano del grupo P-O-H[54-59], lo que tiene pleno sentido si se ha producido el intercambio de protones por iones cadmio.

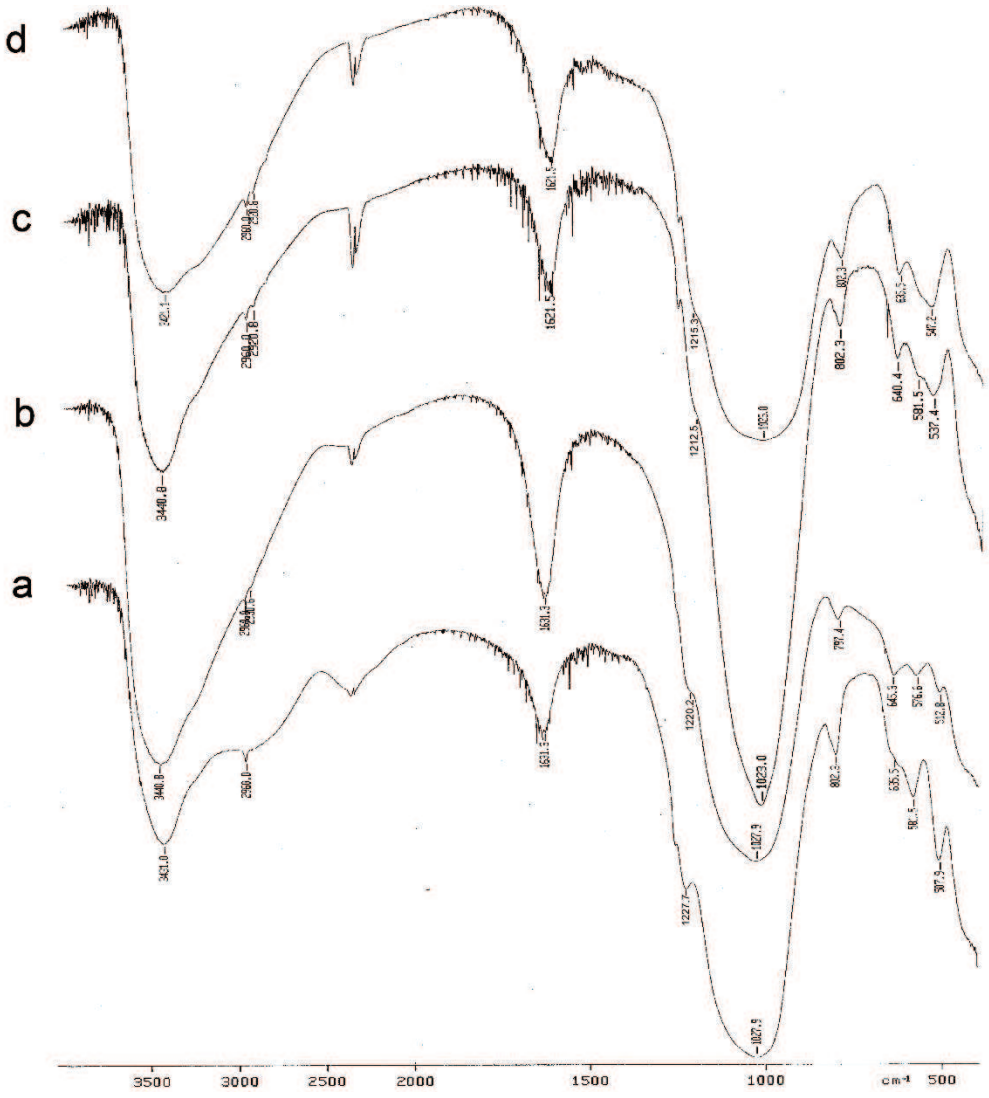


Figura 2.31. *Espectros* ***IR*** *de las* ***NPFT*** *(a); y cargadas con Cd^{2+}, con nitrato,* ***NPFT-Cd-1*** *(b); acetato,* ***NPFT-Cd-2*** *(c) y acetilacetonato,* ***NPFT-Cd-3*** *(d).*

Como en ocasiones anteriores, la zona 500-700 cm^{-1} resultó ser el intervalo más interesante para seguir el intercambio iónico, véase *Figura 2.32.* En los espectros de los tres derivados de cadmio aparece la señal de 640 cm^{-1} atribuida al núcleo de $NaTi_2(PO_4)_3$, lo que sugiere que, al menos en parte, el núcleo cristalino debiera permanecer inalterado.

La señal a 581 cm^{-1} disminuye claramente de intensidad en la formación de **NPFT-Cd-1**, lo que es de esperar dado que la contribución a su intensidad debida a las vibraciones debidas

al grupo HO-P=O de los fosfatos ácidos[22, 58, 59, 61, 62] debe ser menor. En cambio en los espectros de **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3**, la señal no aparece tan clara, sin duda por la aparición de nuevas señales debidas a la formación de otros fosfatos de cadmio (II). Por su parte la señal a 510 cm^{-1} va desapareciendo progresivamente al introducir más cationes cadmio. Dado que al parecer está ligada a los dihidrógenofosfatos[62, 63] es lógico que desaparezca la primera.

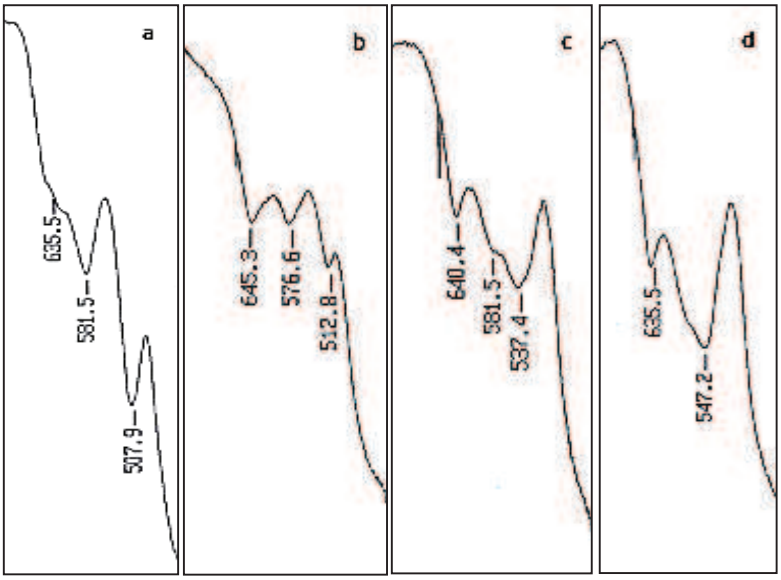


Figura 2.32. *Espectro de **IR** (650-500 cm^{-1}) de las **NPFT** (a) y de las mismas funcionalizadas con sales de cadmio. Nitrato, **NPFT-Cd-1** (b); acetato, **NPFT-Cd-2** (c); acetilacetonato, **NPFT-Cd-3** (d).*

La permanencia de un núcleo cristalino en la formación de los derivados de cadmio también se aprecia en sus espectros de **RMN** de P-31(s) ya que todos ellos presentan una señal intensa a -28 ppm, véase *Figura 2.33*.

El espectro de NPFT-Cd-1 ya ha sido comentado anteriormente. Por lo que respecta a los espectros de RMN P-31(s) de NPFT-Cd-2, *Figura 2.33-c*, y de **NPFT-Cd-3**, *Figura 2.33-d*, la interpretación no es tan directa, lo mismo que ocurrida en la zona 700-500 cm^{-1} del infrarrojo. También en este caso los espectros apuntan a la formación de nuevas especies de fosfatos de cadmio (II), cuya estructura resulta difícil evaluar al ser amorfos. En todo caso, la zona más cambiada es la que corresponde a las señales de los dihidrógenofosfatos, -6 y -13 ppm, tal como era de prever.

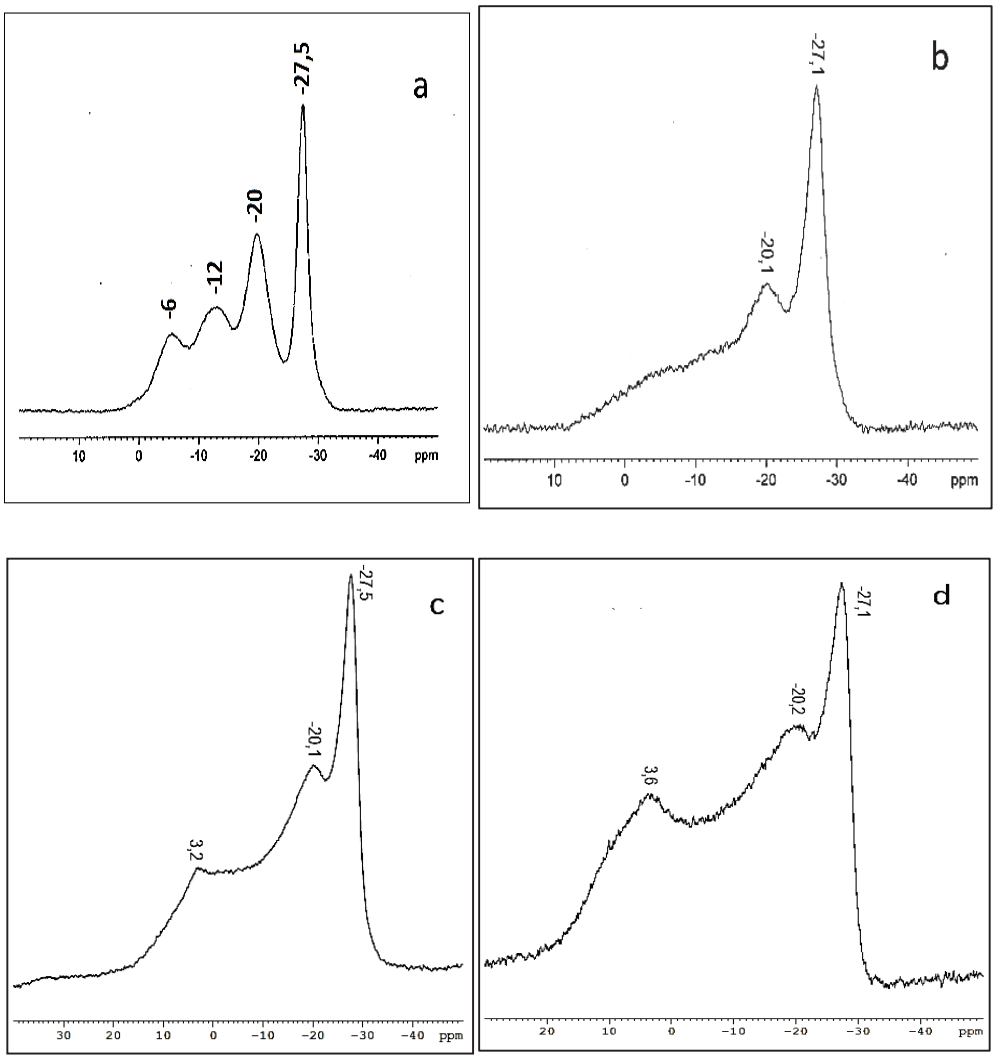


Figura 2.33. *Espectros de* ***RMN*** *de P-31 (s) de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de cadmio.* ***NPFT*** *(incluido a efectos comparativos) (a),* ***NPFT-Cd-1*** *(b),* ***NPFT-Cd-2*** *(c),* ***NPFT-Cd-3*** *(d).*

La subsistencia de un núcleo cristalino debería comprobarse fácilmente mediante difracción de rayos X de polvo. Los difractogramas recogidos en la *Figura 2.34*, en la que se incluye además el difractograma del **NPFT** inicial, confirman que la fase cristalina se mantiene en **NPFT-Cd-1**, donde se aprecia claramente las señales de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$, pero la muestra ha perdido bastante cristalinidad y presenta alguna señal más, por ejemplo un pico a $2\theta \approx 18$.

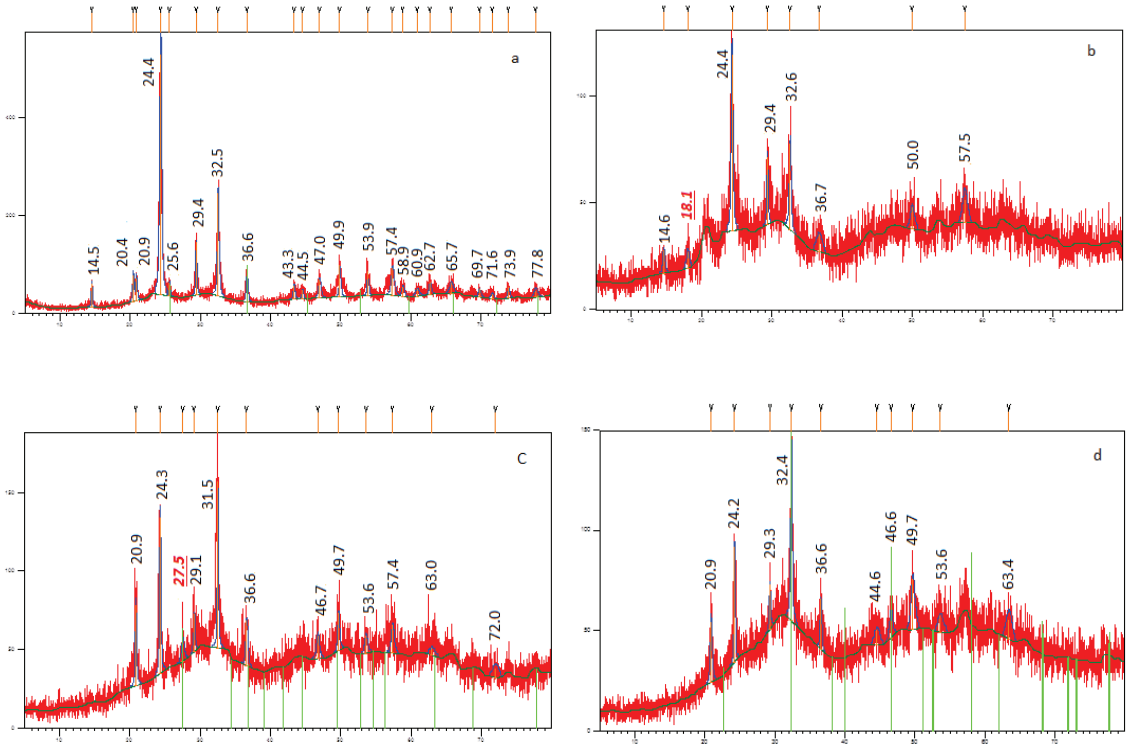


Figura 2.34. *Difractograma de rayos X de* ***NPFT*** *y de las mismas funcionalizadas con sales de cadmio, con nitrato,* ***NPFT-Cd-1*** *(b), con acetato,* ***NPFT-Cd-2*** *(c) y con acetilacetonato,* ***NPFT-Cd-3*** *(d).*

De otro lado, los difractogramas de **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3** se desvían bastante del difractograma de **NPFT**. En primer lugar, la cristalinidad se ha perdido considerablemente. De otro lado, en el difractograma de **NPFT-Cd-2** la intensidad de la señal a $2\theta = 20,9$ es más intensa y aparecen al menos dos nuevas señales a $2\theta = 27,5$ y 31,5. Por su parte en el difractograma de NPFT-Cd-3 destaca la gran intensidad del pico a $2\theta = 32,4$. Todo ello indica la aparición de nuevas.

De los datos de difracción de electrones, *Figura 2.35*, no se puede sacar mucha información adicional. En efecto, las distancias interplanares destacadas: 3,60 Å (**NPFT-Cd-1**); 3,62 y 4,19 Å (**NPFT-Cd-2**); y 3,59 Å (**NPFT-Cd-3**) corresponden a valores de $2\theta = 24,7$; 24,6 y 21,2; y 24,8 en la difracción de rayos X, que se aproximan bastante a valores de 2θ observados en los correspondientes difractogramas recogidos en la *Figura 2.34.*

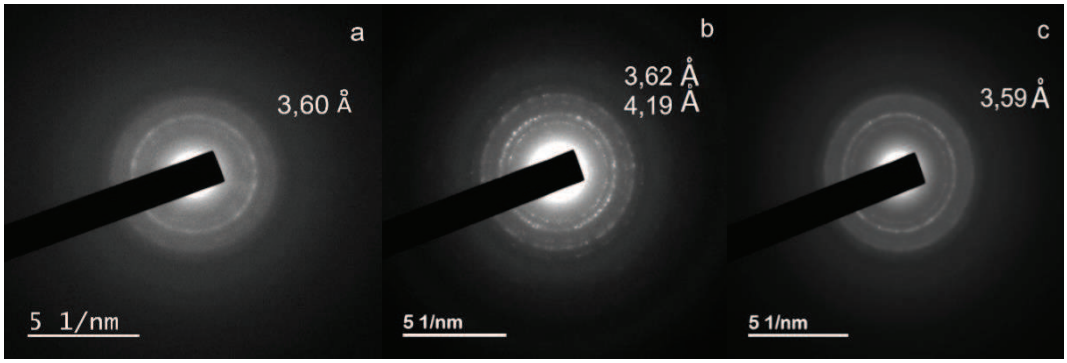


Figura 2.35. *Difracción de electrones de las muestras cargadas con cadmio. Nitrato,* ***NPFT-Cd-1*** *(a), acetato,* ***NPFT-Cd-2*** *(b) y acetilacetonato,* ***NPFT-Cd-3*** *(c).*

La pérdida de cristalinidad de $NaTi_2(PO_4)_3$ puede seguirse por fluorescencia,[38] tal como se explicó en la introducción. En efecto, las nanopartículas de **NPTFT-Cd-1**, **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3** emiten una banda centrada a 720 nm, tras recibir una radiación a 265 nm y, cómo y como se puede ver en la *Figura 2.36 y Figura 2.37,* el área de la señal disminuye de forma directa al aumentar la concentración de metal en las nanopartículas. Así considerando 100 % el área para la señal emitida por el material original, la fluorescencia disminuye un 42 % para el **NPFT-Cd-1**, un 60 % para el **NPFT-Cd-2** y un 84 % para el **NPFT-Cd-3**.

Datos que concuerdan razonablemente bien con la información que aportan los difractogramas de la *Figura 2.34*. De otro lado, teniendo en cuenta que el porcentaje de cadmio va aumentando al pasar de **NPFT-Cd-1** a **NPFT-Cd-3**, las medidas de fluorescencia se convierten en una medida cualitativa indirecta de la concentración de metal en la nanopartícula.

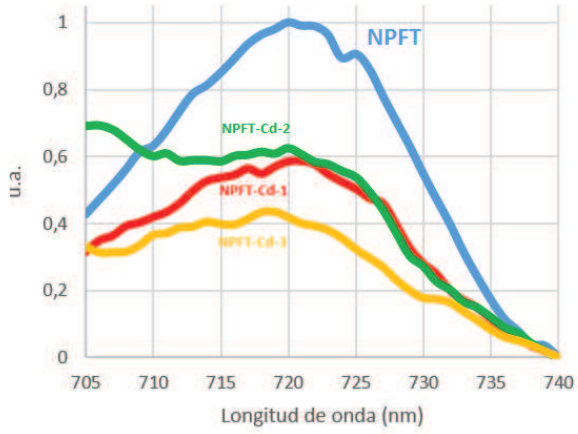


***Figura 2.36**. Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas funcionalizadas con sales de cadmio.*

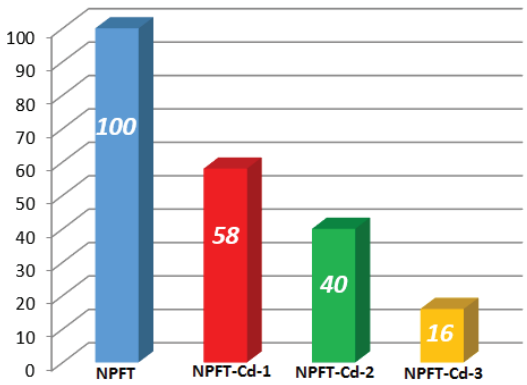


***Figura 2.37.** Porcentajes de las áreas de la señal a 720 nm en los espectros de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de cadmio.*

2.2.1.1. Derivados de las NPFT con cadmio: el problema de la hidrólisis simultánea.

En la discusión de la reacción de **NPFT** con distintas sales de cadmio para dar **NPFT-Cd-1**, **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3** se ha obviado hasta ahora el problema de la hidrólisis de las nanopartículas **NPFT** que debe ocurrir paralelamente al proceso de intercambio iónico. Sin embargo, la hidrólisis parece ser mínima en presencia de los iones metálicos a la vista de los estudios realizados y que se detallan a continuación.

En primer lugar, se midió el espectro de **RMN** de P-31 de la disolución sobrenadante al calentar una disolución de 52 mg de nitrato de cadmio (II) tetrahidratado (0,17 mmoles) en 17 mL de agua a la que se le han añadido 40 mg de **NPFT,** durante dos horas a 50 °C (recuérdese que la hidrólisis es un fenómeno muy rápido en su inicio). Pues bien, el espectro mostrado en la *Figura 2.38*, indica que apenas se ha formado unas trazas de ácido fosfórico, pues solo aparece una señal muy débil de H_3PO_4 a 0 ppm (nótese el ruido de fondo).

Dado que el proceso de hidrólisis de las **NPFT** es muy rápido es crucial preparar las disoluciones acuosas de las sales metálicas y añadir posteriormente sobre ellas las nanopartículas de **NPFT.** Es obvio que si el orden fuera al revés, si se añadieran las sales de cadmio sobre dispersiones de **NPFT** en agua mQ, las **NPFT** tendrían tiempo para hidrolizarse apreciablemente antes de recibir las sales de cadmio.

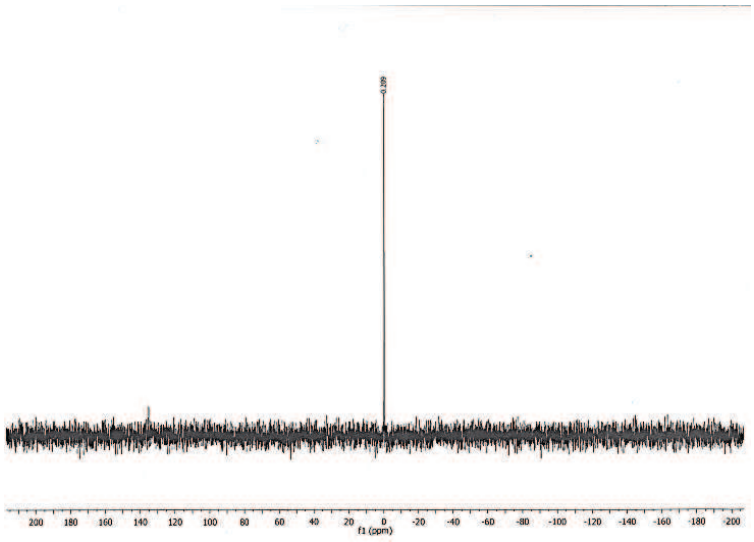


Figura 2.38. *RMN P-31 del sobrenadante que resulta al calentar una disolución de 0,17 mmoles de nitrato de cadmio tetrahidratado en 17 mL de agua a la que se le han añadido 40 mg de* ***NPFT****, a 50 °C durante dos horas.*

En un experimento separado se ha estudiado como varia el pH de una suspensión de **NPFT-Cd-1** (40 mg) en agua (17 mL) a temperatura ambiente y a 50 °C, comprobándose que éste no varía y coincide con el pH del agua de partida (5,55 ±0,05), que es el pH del agua en contacto con el CO_2 del aire. De ahí se desprende que los fosfatos de cadmio formados en el proceso de intercambio del **NPFT** con Cd^{2+} no sufren procesos de hidrólisis detectables.

En segundo lugar se estudió lo que pasa cuando primero se hidrolizan las **NPFT** y luego se incorporan los iones de Cd^{2+}. Para ello, se prepararon unas nuevas nanopartículas de Fosfato de Titanio con cadmio, **NPFT-H-Cd**, haciendo reaccionar **NPFT-H** con nitrato de Cadmio (pero sin aislar **NPFT-H**). Para ello se calienta durante 22 h a 50 °C con 52 mg de nitrato de cadmio (0,17 mmoles) una suspensión de 40 mg **NPFT-H** en 17 mL de agua previamente calentadas a 50 °C durante 2 h.

La morfología y el tamaño de las nanopartículas **NPFT-H-Cd,** así obtenidas, es semejante a la de las nanopartículas **NPFT**, *Figura 2.2*, **NPFT-H**, *Figura 2.16*, y **NPFT-Cd-1**, *Figura 2.24,* como se aprecia en la *Figura 2.39* donde se recoge su micrografía **MET** y la correspondiente distribución de tamaños.

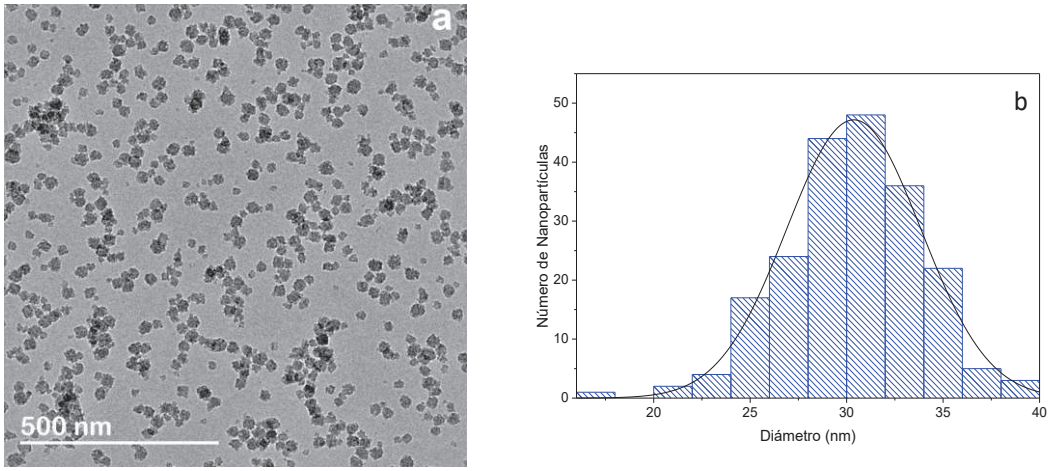


Figura 2.39. *Micrografía **MET** de las nanopartículas de fosfato de titanio suspendidas en agua durante 2 horas y posteriormente tratadas con nitrato de cadmio (a) y su distribución de tamaño (b).*

La relación Cd/Ti en **NPFT-H-Cd** es igual que en **NPFT-Cd-1**, 0,1.

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1	65,56 ± 1,32	2,36 ± 0,01	20,54 ± 1,10	10,52 ± 0,25	1,02 ± 0,03
NPFT-H-Cd	62,28 ± 6,04	2,32 ± 0,49	21,60 ± 3,54	12,68 ± 2,39	1,12 ± 0,19

Tabla 2.7. *Composición (**EDE**) media (%átomos) de las nanopartículas **NPNPFT-H-Cd y NPFT- Cd-1.***

El espectro de infrarrojo de las **NPFT-H-Cd** no se diferencia demasiado ni del espectro IR de las **NPFT-H** ni del espectro de **NPFT-Cd-1**. En todos ellos lo único destacable es la menor intensidad de las bandas asociadas a los fosfatos ácido a 1250, 570 y 510 cm^{-1} con respecto al espectro de **IR** de las **NPFT-H**, debido naturalmente a que disminuye en todos los casos la concentración de los fosfatos ácidos.

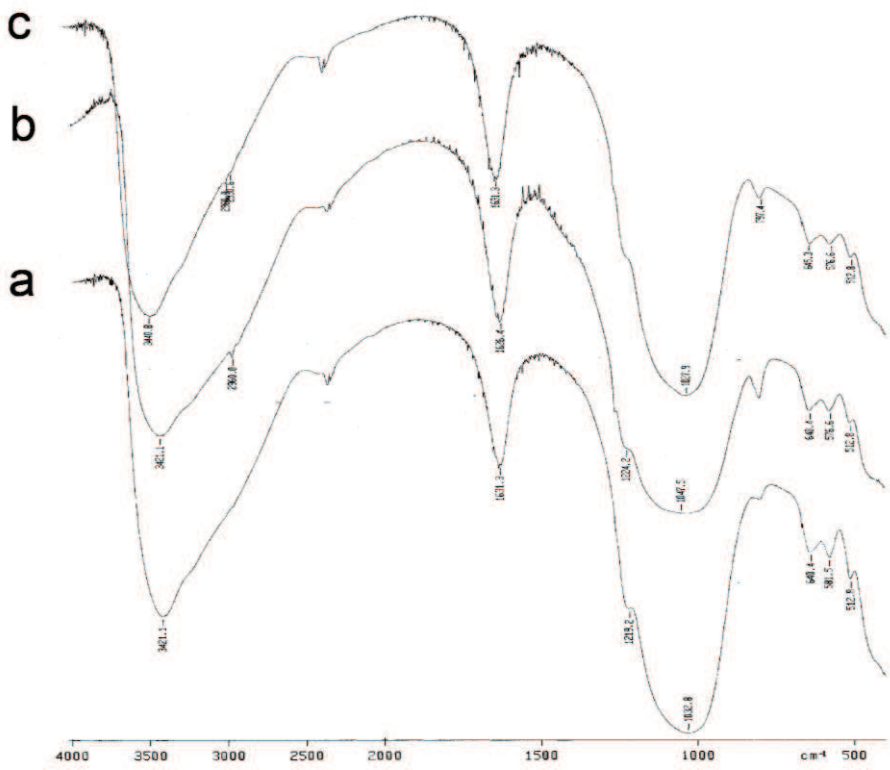


***Figura 2.40. IR** de **NPFT-H** (a), **NPFT-H-Cd** (b) y **NPFT-Cd-1** (c).*

Los espectros de **RMN** de P-31 (s) de **NPFT-H-Cd** (*Figura 2.41-b*) y de **NPFT-Cd-1** (*Figura 2.41-a*) tienen un formato similar pero las intensidades son marcadamente diferentes, siendo las señales a -5 y -13 más intensas en el espectro de **NPFT-Cd-1**. Dado que el proceso de hidrólisis en agua, *Figura 2.41-c*, implica una progresiva disminución de las intensidades de las señales en torno a -5 y -13 ppm y que el proceso de hidrólisis es particularmente rápido al comienzo de la interacción del **NPFT** con agua tanto a temperatura ambiente como a 50 °C (véase el punto *1.2* de discusión de resultados), parece que dicho proceso de hidrólisis se frena por la presencia de iones Cd^{2+} (lo que ocurre en la formación de **NPFT-Cd-1**) o que la reacción de intercambio de iones es más rápida que la de hidrólisis.

De todo ello se desprende la conclusión de que la hidrólisis no juega un papel determinante ni en la síntesis ni en la estabilidad del **NPFT-Cd-1**, siempre y cuando se añadan las **NPFT** sobre las disoluciones de las sales metálicas, debido quizás a que se forman fosfatos de titanio y cadmio particularmente insolubles.

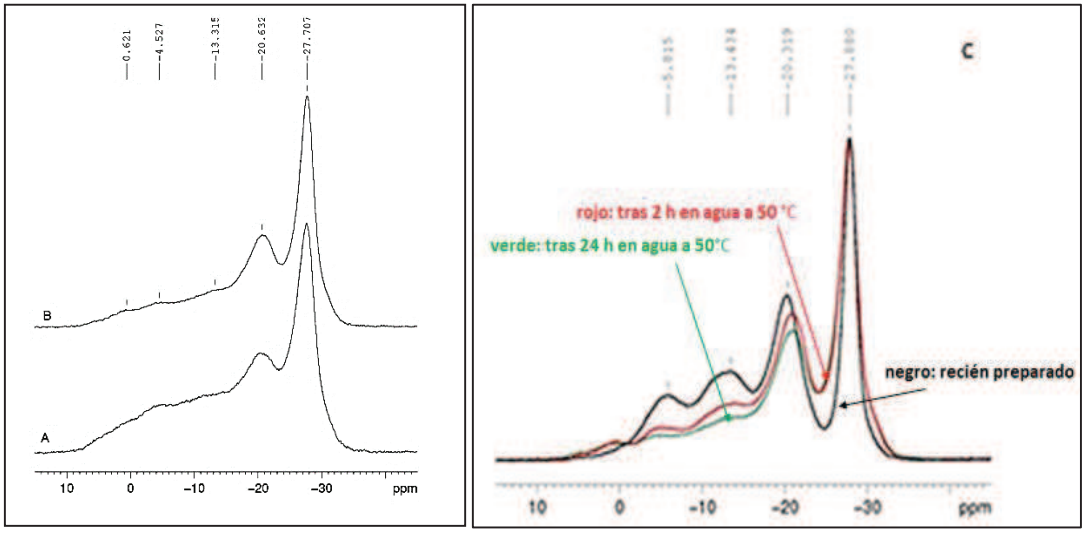


Figura 2.41. *Espectro de **RMN** de P-31 (s) **NPFT-Cd-1** (A) y **NPFT-H-Cd** (B). Proceso de hidrolisis de **NPFT** (c)*

En la *Figura 2.42* se recogen los difractogramas de **NPFT-Cd-1** y **NPFT-H-Cd**. Si el proceso de hidrólisis fuese rápido frente a la sustitución y teniendo en cuenta que la hidrólisis se produce al principio, habría poca diferencia en la cristalinidad de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ de las nanopartículas con cadmio **NPFT-Cd-1** y **NPFT-H-Cd**. El hecho de que la diferencia de cristalinidad sea notable sugiere que el intercambio de iones es más rápido que el proceso de hidrólisis cuando desde el principio hay iones Cd^{2+}, avalando la hipótesis anteriormente expuesta.

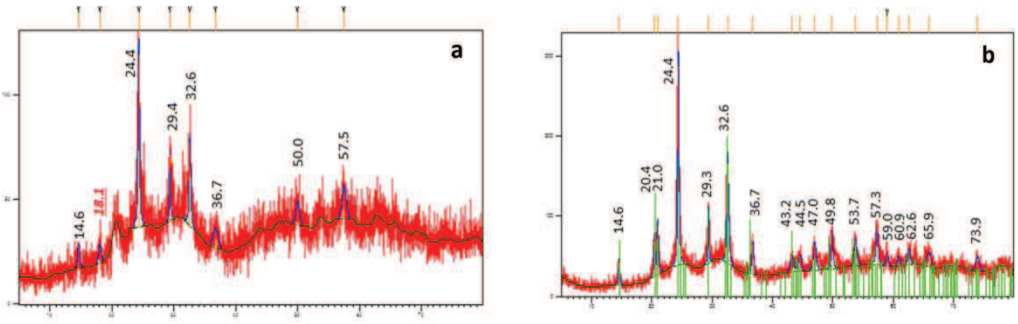


Figura 2.42. *Difractogramas de* ***NPFT-Cd-1*** *(a) y* ***NPFT-H-Cd*** *(b).*

2.2.2. Derivados de las NPFT con Mercurio.

Las nanopartículas **NPFT** también son capaces de incorporar iones Hg^{2+}. Así, si se añaden 40 mg de NPFT sobre sendas disoluciones de $Hg(NO_3)_2$. H_2O (0,17 mmoles) y $Hg(CH_3COO)_2$ (0,17 mmoles) en 17 mL de agua mQ y, a continuación se calientan las suspensiones resultantes a 50 °C durante 24 h, se obtienen las nanopartículas **NPFT-Hg-1** y **NPFT-Hg-2** respectivamente. Estas nuevas nanopartículas han sido caracterizadas por **MET**, **IR**, **RMN** de P-31(s), y difracción de Rayos X de polvo.

En la *Figura 2.43* se recogen sus micrografías **MET**. En ellas se observa que la forma (cuasi-esférica) y el diámetro promedio (30 nm) del material de partida persiste, independientemente de la elección de la sal de mercurio, si bien las **NPFT-Hg-2** contienen más mercurio que las **NPFT-Hg-1.**

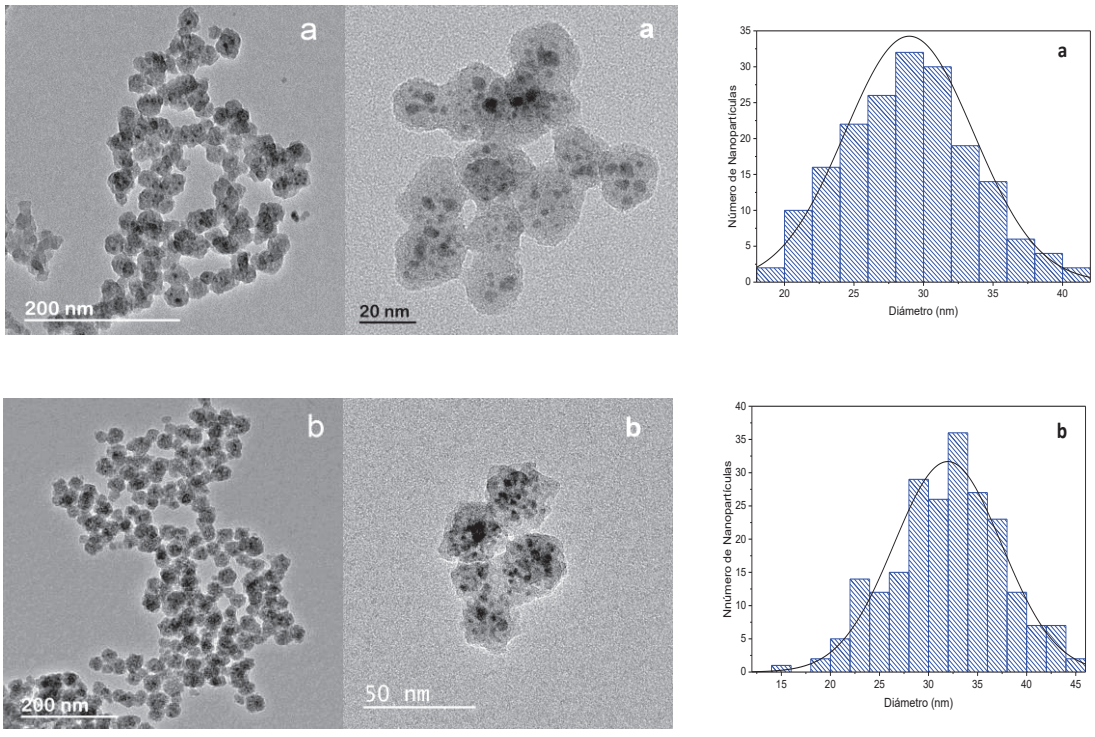


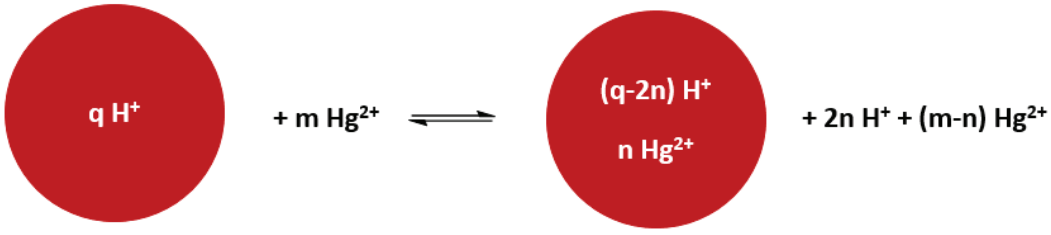
Figura 2.43. *Micrografías* ***MET*** *y correspondiente distribución de tamaño de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de mercurio.* ***NPFT-Hg-1*** *(a),* ***NPFT-Hg-2*** *(b).*

En la *Tabla 2.8* se muestran las concentraciones de mercurio en **NPFT-Hg-1** y **NPFT-Hg-2**. A efectos comparativos se incluido datos similares de **NPFT** y de los derivados de cadmio obtenidos con nitrato y acetato de cadmio (II).

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Hg (%)	pH
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37	0,00	2,70
NPFT-Hg-1	70,67 ± 2,22	0,67 ± 0,08	19,07 ± 1,24	8,57 ± 0,63	1,03 ± 0,42	1,98
NPFT-Hg-2	70,00 ± 2,33	1,29 ± 0,19	18,67 ± 1,51	7,90 ± 0,70	2,14 ± 0,20	3,74
NPFT-Cd-1	65,56 ± 1,32	2,36 ± 0,01	20,54 ± 1,10	10,52 ± 0,25	1,02 ± 0,03	2,47
NPFT-Cd-2	67,39 ± 0,39	1,59 ± 0,28	17,04 ± 0,10	7,26 ± 0,15	6,72 ± 0,12	4,29

Tabla 2.8. *Composición media (% átomos) de las nanopartículas de fosfato de titanio con Hg^{2+}. Los porcentajes correspondientes a las nanopartículas similares con Cd^{2+} se han añadido a efectos comparativos.*

Como en el caso de los derivados de **NPFT** con cadmio la cantidad de mercurio incorporado aumenta al emplear sales cuyos aniones tienen carácter básico, mientras que la relación Hg/Ti es 0,12 cuando se emplea nitrato de mercurio, la relación Hg/Ti sube 0,27 si la sal empleada es acetato de mercurio (II). Las razones, sin duda, serán las mismas que se adujeron cuando se discutieron los resultados de incorporar Cd^{2+}, *Figura 2.28*, los acetatos desplazan el equilibrio de la *Ecuación 2.2* hacia la derecha.



Ecuación 2.2. *Esquema equilibrio protones-cationes en **NPFT**.*

Ahora bien, si se comparan las concentraciones de mercurio con las concentraciones de cadmio incorporados a las nanopartículas empleando sales del mismo anión resulta que el porcentaje es similar cuando se emplea los nitratos (relación Hg/Ti= 0,12; relación Cd/Ti= 0,1) pero es mucho menor si usan acetatos (relación Hg/Ti= 0,27; relación Cd/Ti= 0,92). Este desfase en la incorporación de metal cuando se emplean los acetatos de cadmio y mercurio está constatado por las medidas electroquímicas recogidas en la Tesis del Dr. Martín Yerga. Así, usando $Cd(CH_3COO)_2.2H_2O$ se incorporan 1,8±0,2 mmoles Cd/g nanopartícula (en **NPFT-Cd-2**) (§ 8.2.5), mientras que empleando $Hg(CH_3COO)_2$ se incorporan 0,49±0,04 mmoles Hg/g nanopartícula (en **NPFT-Hg-2**) (§ 8.2.4).

Esto es llamativo por cuanto los pH de las suspensiones finales de reacción son más bajos en el caso del mercurio (3,74 en el caso de acetato de mercurio (II) vs. 4,29 en el caso de acetato de cadmio (II), véase *Tabla 2.8*), que sugiere que el mercurio logra extraer más protones de las **NPFT**. La explicación más sencilla es que se formen compuestos completamente diferentes (compárense sus **RMN** de P-31(s) –*Figura 2.33*- y sus difractogramas de Rayos X de polvo -*Figura 2.34 y Figura 2.46*-, véase también *sección 2.2.1*).

De otro lado, las nanopartículas con mercurio presentan una peculiaridad respecto a sus homólogas con cadmio: poseen unos cúmulos fácilmente identificables, en los que la concentración del metal es mayor como se aprecia en la composición obtenida por **EDE** para el **NPFT-Hg-2** (la línea roja señalada con una flecha de la *Figura 2.44* indica la concentración de mercurio a lo largo de la recta que está en su línea base). La naturaleza de estas formaciones resulta intrigante. Lo único que se ha logrado averiguar es que no se trata de mercurio metálico ni de óxido de mercurio (II). Que no es mercurio metálico viene avalado porque el mercurio retenido en **NPFT-Hg-2** es soluble en ácido clorhídrico (véase más adelante en el apartado 2.3). Por otro lado, dada la concentración del posible óxido mercúrico se esperaría una señal algo débil a 600 cm^{-1} en el espectro de IR debida al HgO, pero no aparece. Más aún, las distancias interplanares detectadas por la difracción de electrones sobre las manchas oscuras de la micrografía parecen corresponder más bien a la fase cristalina $NaTi_2(PO_4)_3$. (Véase más adelante).

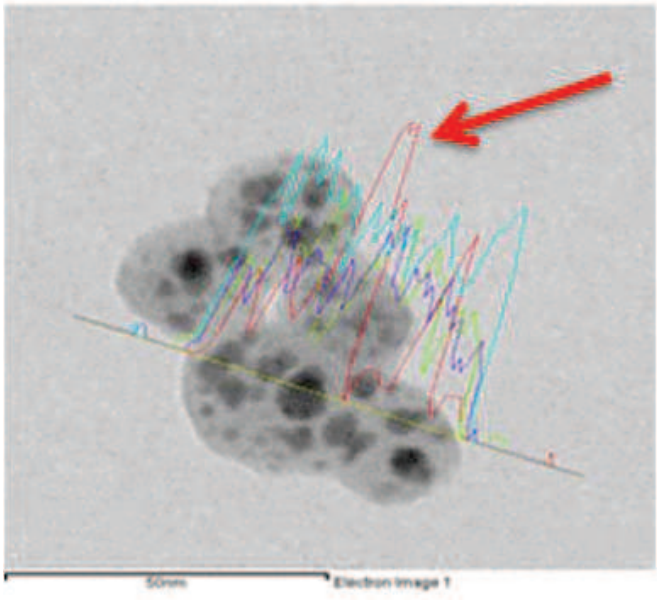


Figura 2.44. *Micrografía* ***MET*** *de* ***NPFT-Hg-2****. Las líneas de distintos colores indican la variación en la concentración de distintos elementos a lo largo de la línea base. La línea roja indica la* $[Hg^{2+}]$.

Los espectros de infrarrojo de las nanopartículas obtenidas son mostrados en la *Figura 2.45*. En el espectro de **NPFT-Hg-1**, *Figura 2.45-a*, la zona de 1300-1400 cm^{-1} se encuentra totalmente limpia indicando que las nanopartículas no contienen aniones nitrato. De otro lado, en el espectro de **NPFT-Hg-2**, *Figura 2.45-b*, en la zona de 1400-1500 cm^{-1} no hay señal alguna atribuible a iones acetato. Esto significa que los iones metálicos se intercambiaron con los protones de los grupos $(HPO_4)^{2-}$ y $(H_2PO_4)^{1-}$ del material de partida generando ácido nítrico o ácido acético y que fueron eliminados, junto con el posible exceso de sal, en los posteriores lavados con agua.

En los espectros se detectan las bandas anchas hacia 3425 y 1615 cm^{-1} debidas a las vibraciones de tensión del grupo –OH y de deformación H-O-H respectivamente, del agua retenida. La señal débil a 2960 cm^{-1} que se debe a pequeñas cantidades de surfactante presentes en la muestra.

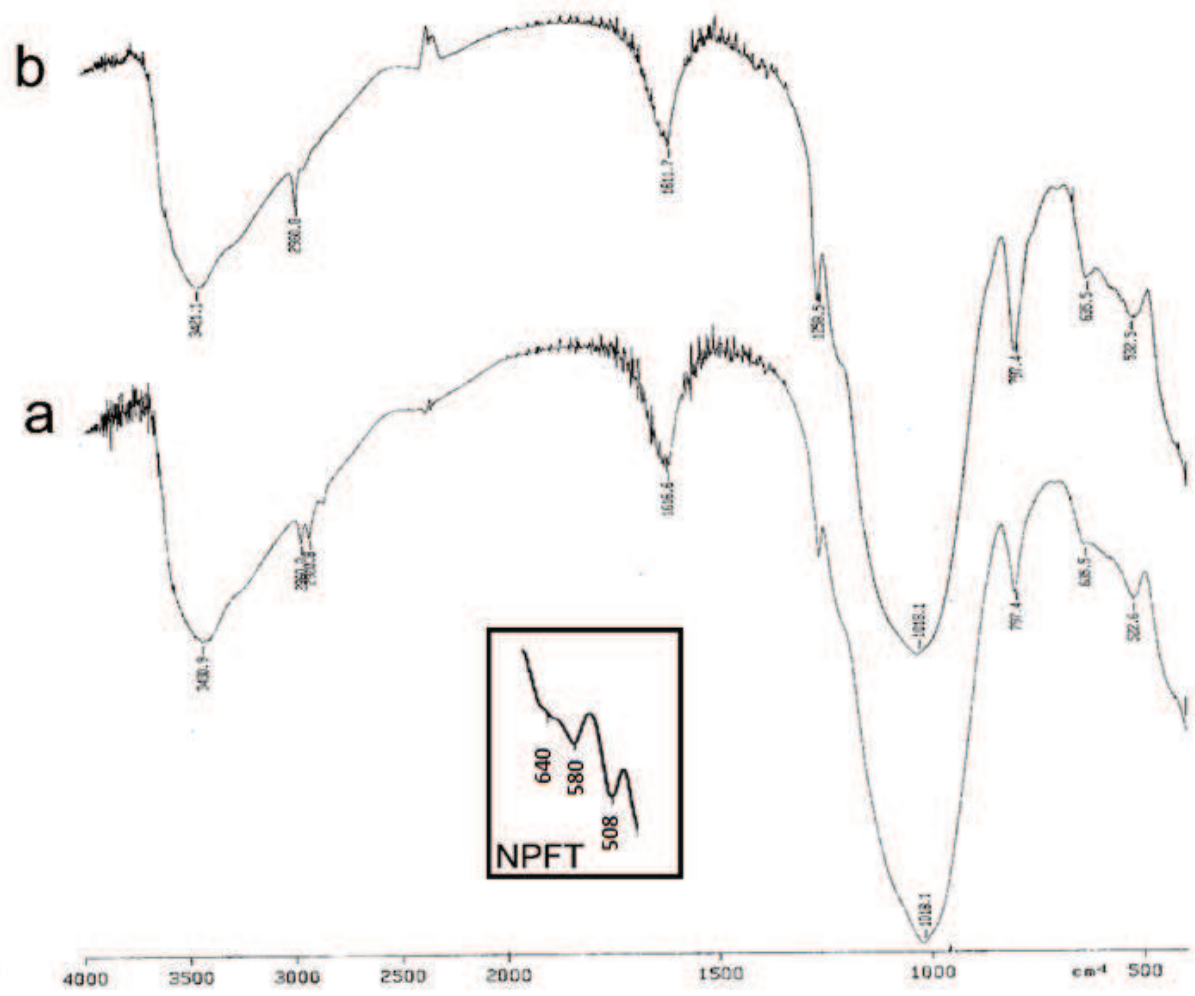


Figura 2.45. *Espectro* ***IR*** *de* ***NPFT-Hg-1*** *(a) y* ***NPFT-Hg-2*** *(b).*

En ambos espectros se puede observar claramente una señal a 640 cm^{-1} debida a la fase $NaTi_2(PO_4)_3$. La banda a 580 cm^{-1} está tapada por otras absorciones, habiéndose reducido notablemente su intensidad. También ha desaparecido la banda a 510 cm^{-1}. Todo ello indica que el número de grupos HO-P=O ha disminuido, lo que es coherente con el intercambio de protones por mercurio (II).

Los espectros de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Hg-1** y **NPFT-Hg-2** son bastante peculiares por cuanto en ellos ha desaparecido la banda a -20 ppm, que hasta ahora había aparecido en todos los derivados con Cd^{2+} siendo reemplazada por una señal a -17 ppm pero muy ancha. También son muy diferentes las señales a campos más bajos. Todo ello indica una fuerte reorganización estructural de toda la nanopartícula que deben adoptar una estructura interna muy diferente de la que tienen las partículas similares de cadmio (**NPFT-Cd-1** y **NPFT-Cd-2**).

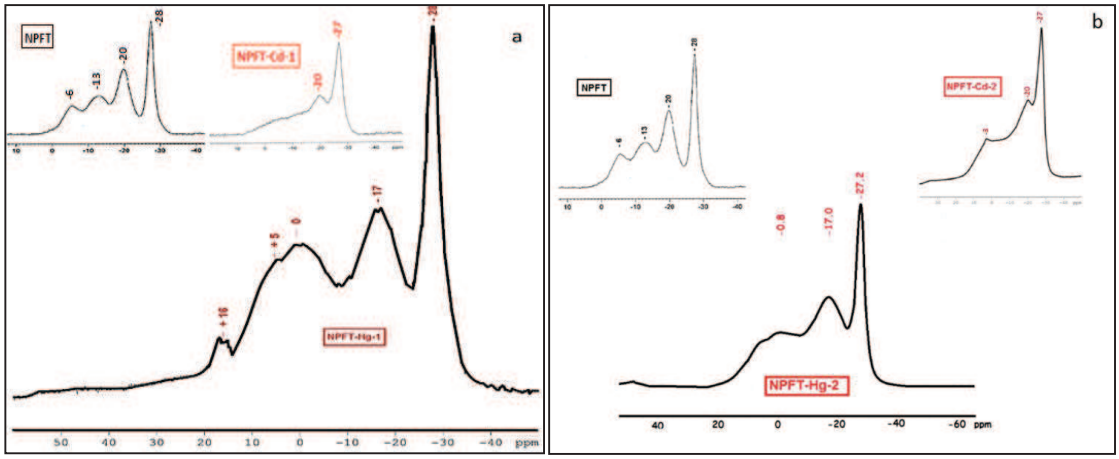


Figura 2.46. *Espectros* ***RMN*** *(P-31) de* ***NPFT-Hg-1*** *(a) y* ***NPFT-Hg-2*** *(b). Se ha añadido los espectros de* ***NPF****,* ***NPFT-Cd-1*** *y* ***NPFT-Cd-2****, a efectos comparativos.*

Los difractogramas de las nanopartículas **NPFT-Hg-1** y **NPFT-Hg-2** también avalan una reorganización profunda de la nanopartícula inicial, pues no solo han perdido mucha cristalinidad sino que cuesta distinguir las señales propias de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ y en algún caso aparecen señales nuevas ($2\theta \approx 31$ en **NPFT-Hg-1**).

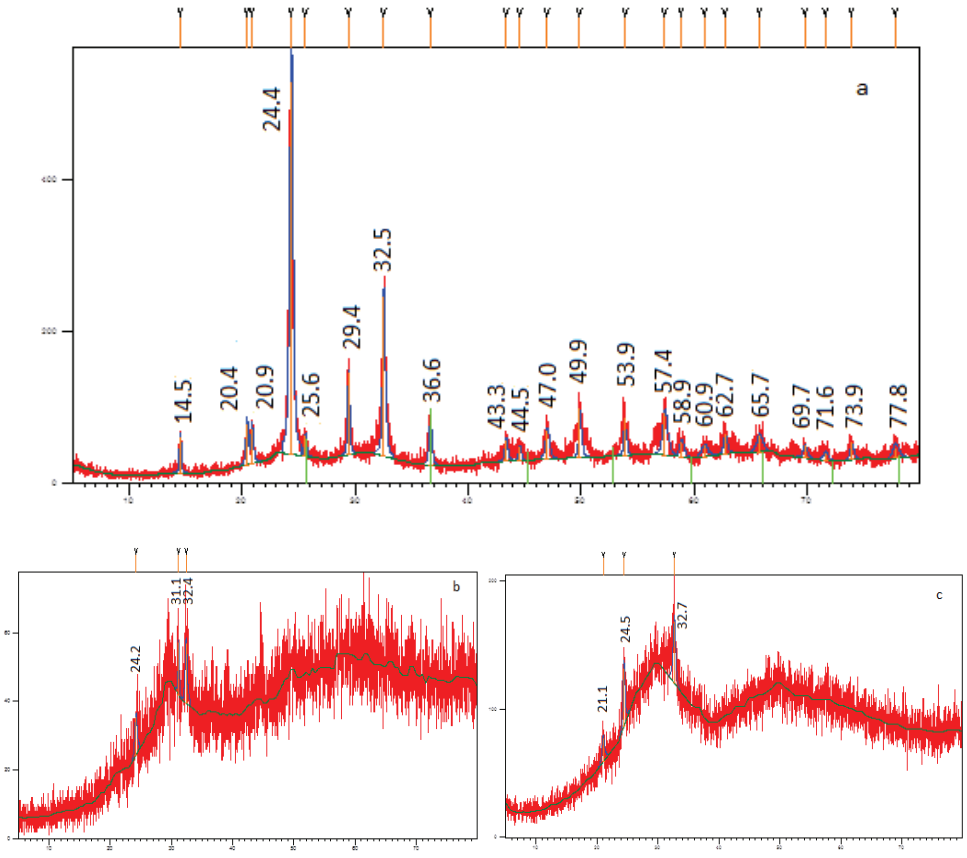


Figura 2.47. *Difractogramas de rayos X de* ***NPFT*** *(a),* ***NPFT-Hg-1*** *(b) y* ***NPFT-Hg-2*** *(c).*

Las distancias interplanares detectadas por difracción de electrones en la *Figura 2.48* son 3,64 Å y 3,57 Å que corresponden a valores de 2θ = 24,5 y 24,9 en la difracción de rayos X, relativamente próximas a la señal a 2θ =24,4 de la fase cristalina del trifosfato de dititanio y sodio (*Figura 2.47*).

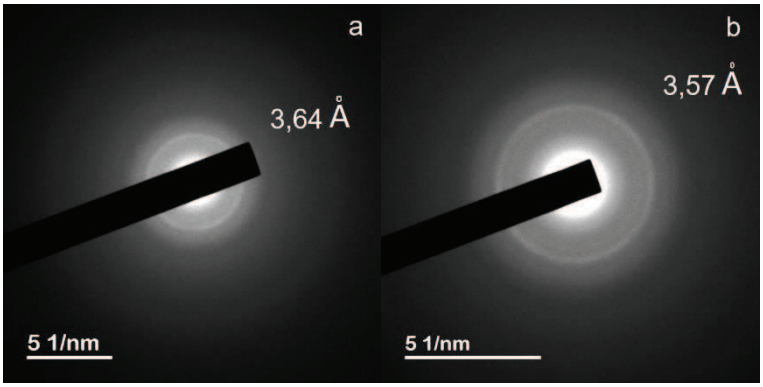


Figura 2.48. *Difracción de electrones de las* ***NPFT*** *cargadas con mercurio. Nitrato (a), acetato (b).*

Por su parte los espectros de fluorescencia, en los que el área de la señal de 720 nm disminuye hasta el 24 % (para **NPFT-Hg-1**) Y 21 % de la intensidad original (para **NPFT-Hg-2**) con respecto a la de la señal del material de partida, sugieren que quedan restos de $NaTi_2(PO_4)_3$, si bien con muy baja cristalinidad.

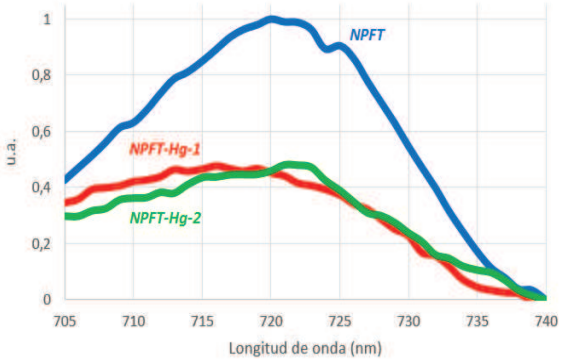


Figura 2.49. *Espectro Fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de mercurio.*

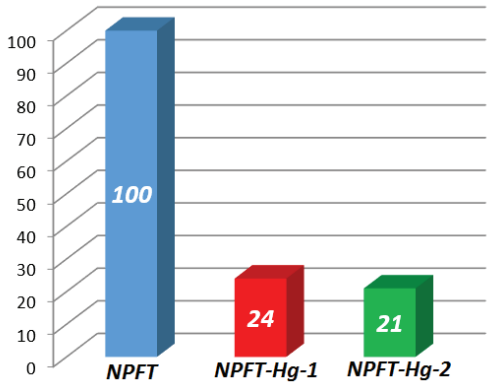


Figura 2.50. *Porcentajes del área de la señal de 720 nm en los espectros de fluorescencia en las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con sales de mercurio.*

2.2.3 Derivados de las NPFT con Cobre.

Añadiendo 40 mg **NPFT** sobre una disolución de 37 mg (0,17 mmoles) de acetato de cobre (II) monohidratado en 17 mL de agua y luego calentando la suspensión a 50 °C durante 24 h se obtuvieron unas nanopartículas cargadas con cobre, **NPFT-Cu-2**. Fueron caracterizadas mediante **MET**, Infrarrojo, difracción de Rayos X de polvo y fluorescencia. En este caso no se hicieron medidas de **RMN** pues el cobre (II) es paramagnético.

Como en ocasiones anteriores las nanopartículas **NPFT-Cu-2** son cuasi-esféricas y de un diámetro medio de 30 nm.

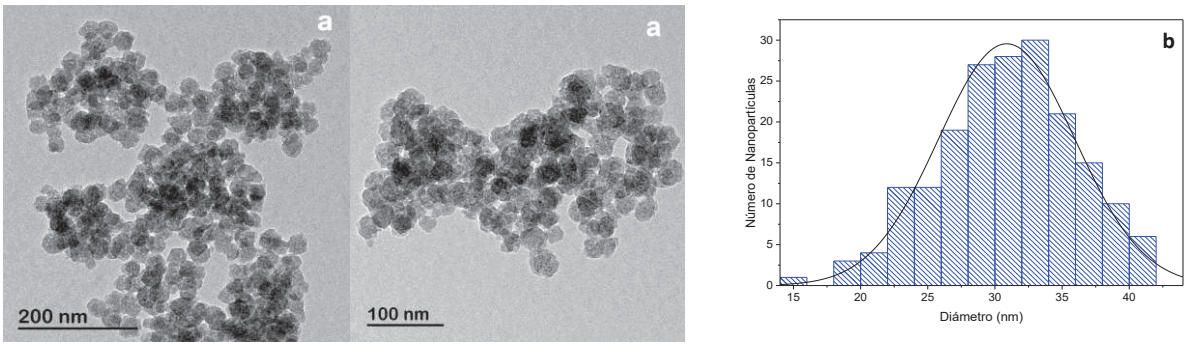


Figura 2.51. *Micrografías **MET** de **NPFT-Cu-2** (a) y su distribución de tamaño (b).*

El análisis semicuantitativo de las muestras **NPFT-Cu-2** determinado por **EDE** (**MET**) (*Tabla 2.9*), es más difícil de interpretar que en ocasiones anteriores, porque hay cobre en la muestra y la rejilla soporte es de cobre. Hasta este punto, lo que se hacía era eliminar de los cálculos la contribución del cobre. En esta ocasión, para que los datos sean útiles, los resultados han sido modificados para tratar de eliminar la contribución de cobre de la rejilla como si fuera ruido de fondo (midiendo el cobre en una zona donde no hay nanopartículas). A pesar de todo, el porcentaje de cobre es alto. Sin embargo, es de esperar que el porcentaje de cobre sea alto puesto que se ha empleado acetato de cobre (II) como sal de cobre. De hecho, el pH de la suspensión del final de reacción es 4, lo que es perfectamente compatible con la formación de ácido acético.

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cu (%)	pH
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37	0,00	2,70
NPFT-Cu	66,75 ± 2,59	3,44 ± 0,04	14,36 ± 2,28	8,03 ± 0,46	7,39 ± 0,87	4,01

Tabla 2.9. *Composición (**EDE**) media (% átomos) de las nanopartículas de fosfato de titanio sin funcionalizar.*

Paralelamente las medidas electroquímicas recogidas en la Tesis del Dr. Daniel Martín Yerga indican que la cantidad de Cu incorporado a las nanopartículas **NPFT-Cu-2** es 1,7±0,2 mmoles Cu/g (§ 8.2.4). Esta concentración es similar a la del cadmio incorporado a **NPFT-Cd-2**, 1,8±0,2 mmoles Cd/g nanopartícula (§ 8.2.5).

El espectro de infrarrojo de **NPFT-Cu-2** muestra que la zona 1400-1500 cm^{-1} se encuentra totalmente limpia, lo que significa que tanto los iones acetato como el ácido acético formado han sido eliminados en los posteriores lavados con agua. Se observan además, las señales referentes al gua absorbida físicamente, 3421 y 1628 cm^{-1}, y al surfactante, 2960 y 2921 cm^{-1} y que ya han sido comentadas anteriormente.

En el espectro aparece también la señal a 640 cm^{-1} debida a $NaTi_2(PO_4)_3$. Por su parte las señales a 1220, 580 y 510 cm^{-1} han disminuido de intensidad, lo que es indicativo de que se ha llevado a cabo el intercambio de protones de los fosfatos ácidos por cobre (II). De otro lado, teniendo en cuenta que el vidrio $(CuO)_{0,5}(P_20_5)_{0,5}$ exhibe una banda a 523 cm^{-1} [64] y el compuesto $Cu_3(PO_4)_2$. $2H_2O$ muestra bandas a 633 y 559 cm^{-1},[65] parece que las bandas a 552 y 517 cm^{-1} son debidas a los fosfatos de cobre formados.

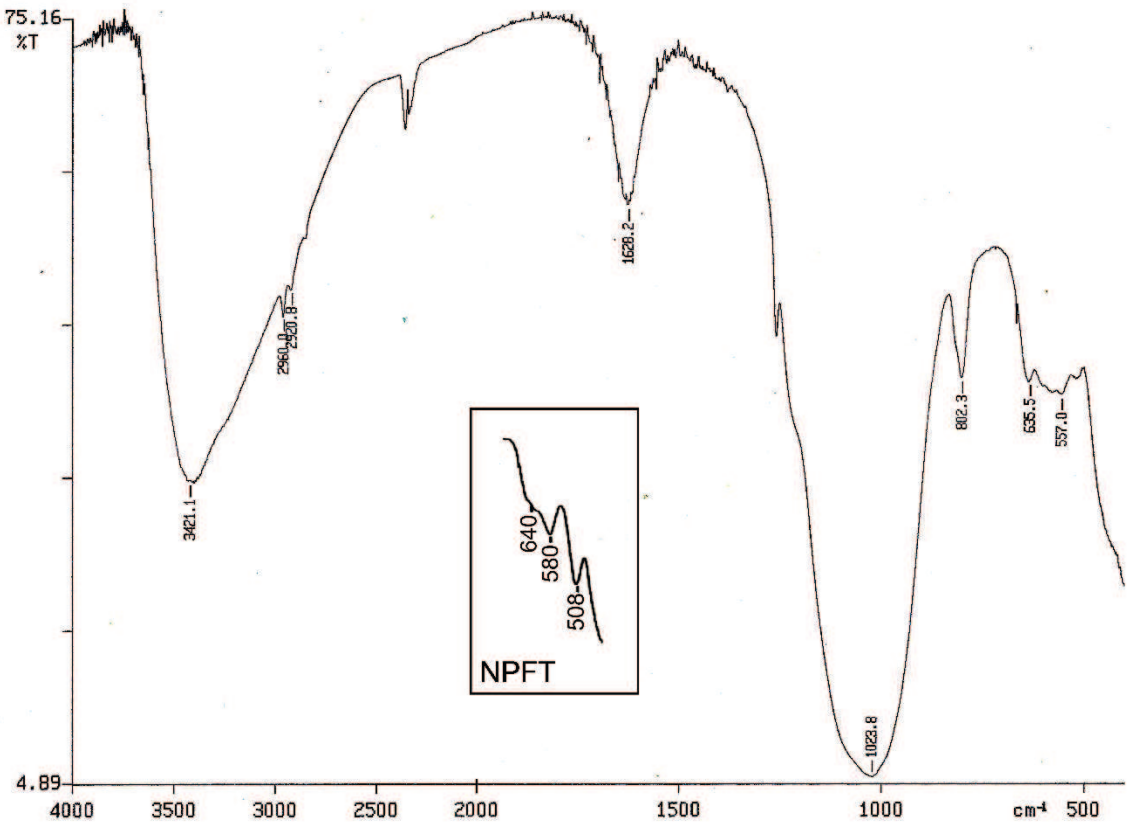


Figura 2.52. *Espectro* ***IR*** *de* ***NPFT-Cu-2****.*

En el difractograma de rayos X de **NPFT-Cu-2**, bastante distorsionado por la falta de cristalinidad, muestra claramente la presencia de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ cristalina (confirmada también por difracción de electrones), si bien aparece algún pico extra a $2\theta \approx 18$.

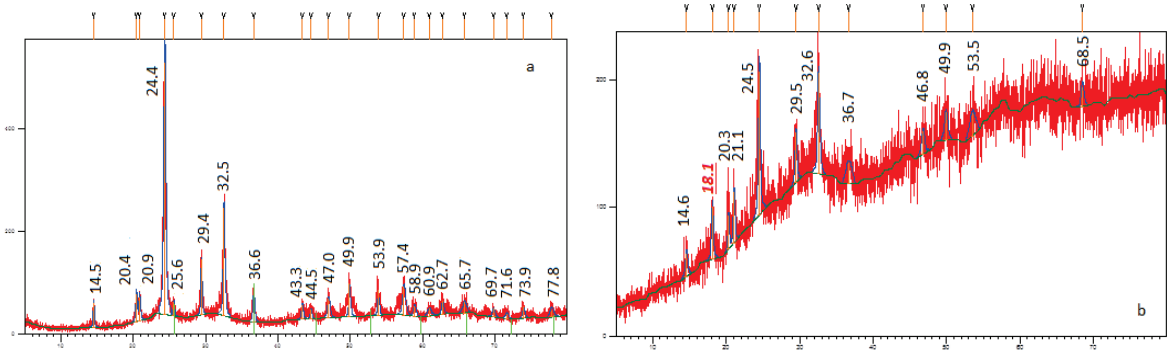


Figura 2.53. *Difractograma de rayos X de* ***NPFT*** *(a), y de* ***NPFT-Cu-2*** *(b).*

La difracción de electrones, *Figura 2.54,* da distancias interplanares a 2,72; 3,00; 3,67 y 4,34 Å que correspondientes a valores de 2θ = 32,9; 29,8; 24,3 y 20,5 en la difracción de rayos X, que son valores muy próximos a valores de 2θ observados en el difractograma de rayos X de **NPFT** (32,5; 29,4; 24,4 y 20,4). Estos datos confirman la subsistencia de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$.

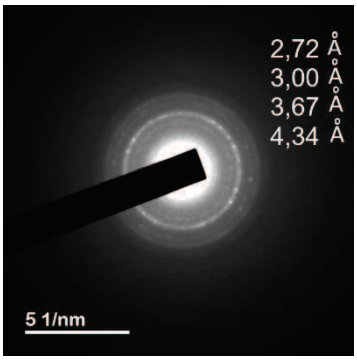


Figura 2.54. *Difracción de electrones asociada al* ***MET*** *de* ***NPFT-Cu-2****.*

Las medidas de fluorescencia también reflejan la pérdida de cristalinidad. El porcentaje del área de la señal a 720 nm se ha reducido a un 21 % del original (*Figura 2.55* y *Figura 2.56*).

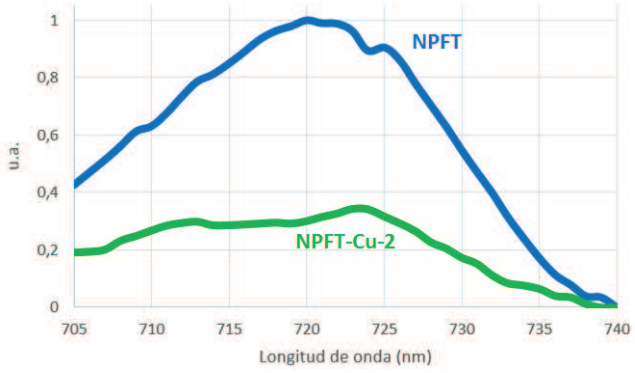


Figura 2.55. *Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de* ***NPFT*** *y* ***NPFT-Cu-2****.*

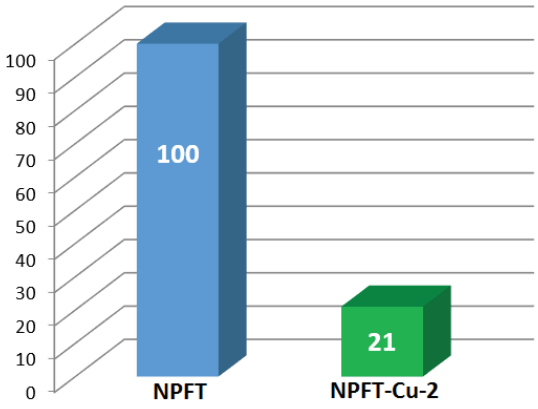


Figura 2.56. *Porcentaje del área de la señal a 720 nm en el espectro de fluorescencia de* ***NPFT*** *y* ***NPFT-Cu-2***

.

2.2.3.1. Derivados de las NPFT con Cobre: NPFT-Cu-2 en medio básico.

Dado que una de las aplicaciones de las **NPFT-Cu-2**[6] requiere un breve tratamiento (60 s) de estas nanopartículas en medio básico (disolución acuosa de NaOH 0,1M) se decidió estudiar que le ocurrían a las partículas **NPFT-Cu-2** al recibir tal tratamiento. Las partículas resultantes recibieron el nombre **NPFT-Cu-OH**.

Como se puede apreciar en las micrografías **MET** las nanopartículas no modifican su forma esférica, aunque en este caso se aglomeran algo más que en el caso del material de partida; aun así el diámetro no se ve afectado y miden 30 nm de media aproximadamente.

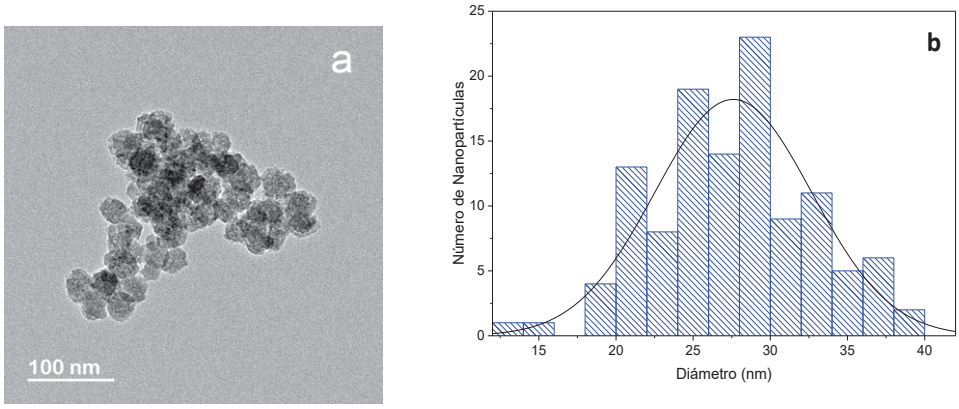


Figura 2.57. *Micrografía **MET** de NPFT-Cu-OH (a) y su distribución de tamaño (b).*

Mediante **EDE** (**MET**) la relación Cu/Ti se acrecienta al pasar del **NPFT-Cu-2** (0,92) al **NPFT-Cu-OH** (1,37).

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cu (%)
NPFT-Cu-2	66,75 ± 2,59	3,44 ± 0,04	14,36 ± 2,28	8,03 ± 0,46	7,39 ± 0,87
NPFT-Cu-OH	62,41 ± 0,40	5,315 ± 1,05	15,14 ± 0,03	7,23 ± 0,33	9,91 ± 1,80

Tabla 2.10. *Composición (**EDE**) media (% atómico) de **NPFT-Cu-2** y **NPFT-Cu-OH**.*

En el espectro de **IR** de **NPFT-Cu-OH** lo más destacable es la disminución en las intensidades de las señales a 580 y a 1250 cm^{-1} lo que sugiere que el NaOH ha reaccionado con los protones de los fosfatos ácidos.

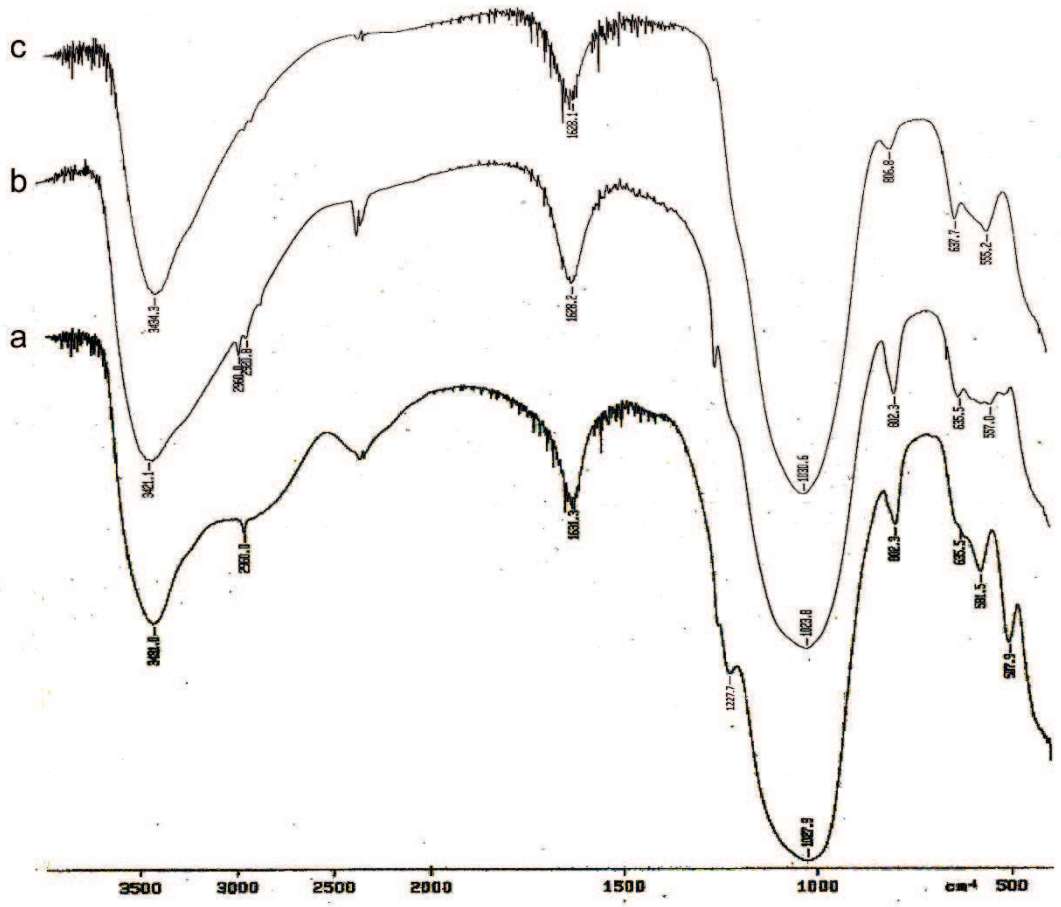


Figura 2.58. *Espectro **IR** de **NPFT** (a), **NPFT-Cu-2** (b) y **NPFT-Cu-OH** (c).*

La presencia de la fase ($NaTi_2(PO_4)_3$) en **NPFT-Cu-OH**, aunque con una cristalinidad bastante más reducida, viene avalada por el difractograma de rayos X de dichas nanopartículas (vease *Figura 2.59-b*). Nótese que en el difractograma de **NPFT-Cu-OH** subsiste el pico de $\theta \approx 18$ que aparecía en el difractograma de **NPFT-Cu-2**.

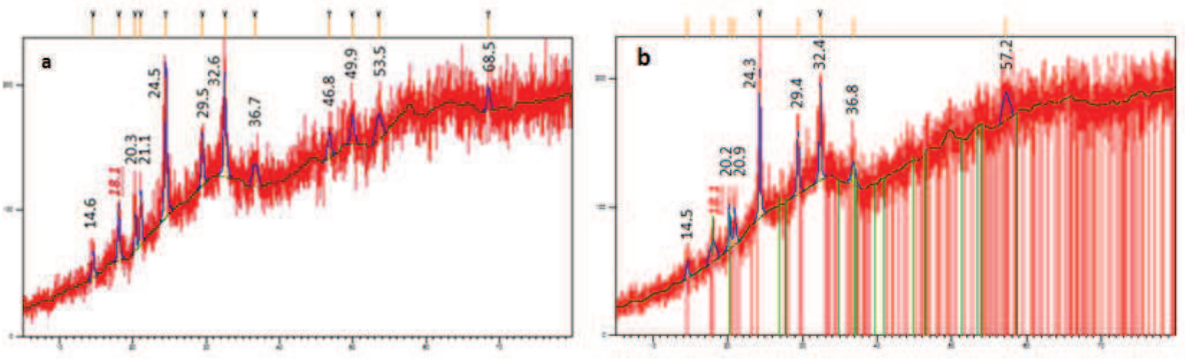


Figura 2.59. *Difractograma de rayos X de* ***NPFT-Cu-2*** *(a) y* ***NPFT-Cu-OH*** *(b).*

La difracción de electrones (asociada al **MET**) (*Figura 2.60*) también confirma la persistencia de la fase de trifosfato de dititanio y sodio en **NPFT-Cu-OH**. Presenta dos distancias interplanares a 2,76 y 3,64 que corresponden a valores de 2θ = 32,4 y 24,5 en la difracción de rayos X, que son valores muy próximos a valores de 2θ observados en el difractograma de rayos X de **NPFT** (32,5 y 24,4) de $NaTi_2(PO_4)_3$.

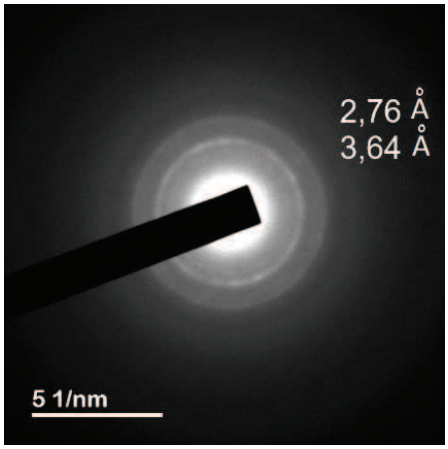


Figura 2.60. *Difracción de electrones de* ***NPFT-Cu-OH****.*

Desafortunadamente los datos de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, **EFX**, no fueron de mucha utilidad para ver los cambios producidos en los compuestos de cobre al poner en contacto **NPFT-Cu-2** con hidróxido sódico durante un minuto porque el formato y las energías de los picos son muy similares para los dos compuestos, **NPFT-Cu-2** y **NPFT-Cu-OH** (véase *Figura 2.61* y *Tabla 2.11*).

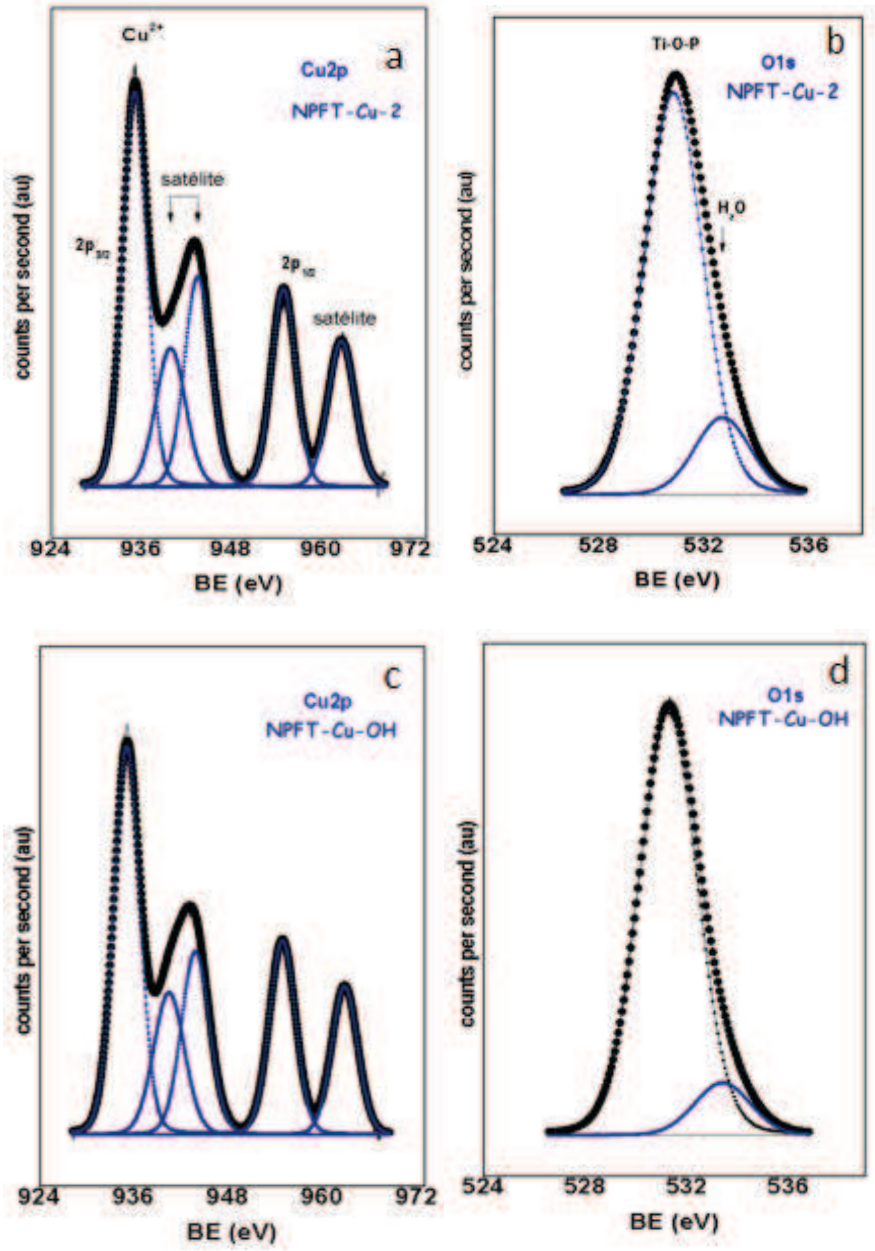


Figura 2.61. *Espectros* ***EFX*** *en las zonas correspondientes al orbital 2p del cobre, para* ***NPFT-Cu-2*** *(a), para* ***NPFT-Cu-OH*** *(c) y al orbital 1s del O para* ***NPFT-Cu-2*** *(b) y* ***NPFT-Cu-OH*** *(d).*

Muestra	*Cu $2p_{3/2}$*	*P 2p*	*Ti $2p_{3/2}$*	*O 1s*	*Na 1s*
NPFT	-------	133,6	459,6	531,3 (84) 533,0 (16)	1071,5
NPFT-Cu-2	935,1 ***0,729***	133,4	459,5	530,8 (87) 532,7 (13)	---------
NPFT-Cu-OH	**935,2** *0,714*	**133,6**	**459,5**	**531,3 (89)** **533,3 (11)**	----------

Tabla 2.11. *Energías de ligadura (eV) de niveles internos de* ***NPFT-Cu-2*** *y* ***NPFT-Cu-OH****. En la segunda columna la relación de áreas de línea satélite y del pico principal aparece como un número subrayado. El pico O1S presenta dos components: La más intense (84-89%) es de Oxígeno de red y la de menor intensidad (11-16%) es debida al agua molecular absorbida.*

En cambio sí puede tener interés comparar la abundancia relativa de los elementos P, Ti, Na y Cu en ambas muestras. Estos datos se pueden obtener de dos fuentes distintas **EFX** y **MET** (**EDE**). Los valores no son estrictamente comparables, pues los datos de **EFX** provienen de la superficie de la nanopartícula, mientras que los de la **MET** incluyen toda la nanopartícula: en todo caso los valores recogidos en la *Tabla 2.12* no difieren mucho entre sí, salvo en el caso del sodio.

		Ti/P	Na/Ti	Cu/Ti
NPFT	**EFX**	0,2	0,5	0,0
	EDE	0,4	0,4	0,0
NPFT-Cu-2	***EFX***	0,4	0,0	1,2
	EDE	0,5	0,4	0,9
NPFT-Cu-OH	***EFX***	0,5	0,0	1,4
	EDE	0,5	0,7	1,4

Tabla 2.12. *Abundancia relativa de los elementos P, Ti, Na y Cu en* ***NPFT***, ***NPFT-Cu-2*** *y* ***NPFT-Cu-OH****.*

En efecto, el sodio no es detectado por **EFX** ni en **NPFT-Cu-2** ni en **NPFT-Cu-OH**, pero si lo es por **MET** (**EDE**) en ambas nanopartículas. Ello quiere decir que no hay compuestos de sodio en su superficie, pero si en su interior. Dado que el sodio si es detectado en la superficie de las **NPFT** de partida por **EFX**, parece que el cobre ha reemplazado completamente al sodio en la superficie, pero no en el interior de las nanopartículas. La explicación más sencilla es suponer que el sodio ha sido sustituido por el cobre en la fase $NaTi_2(PO_4)_3$. De hecho se han descrito sustituciones de sodio por plata[43]. De esa manera, se podría comprender, además, el deterioro de la cristalinidad de dicha fase en **NPFT-Cu-2** y en **NPFT-Cu-OH** detectado por la difracción de rayos X de polvo (*Figura 2.59*) y la disminución de intensidad de las absorciones a 640 y 580 cm^{-1}, debidas al $NaTi_2(PO_4)_3$, en infrarrojo (*Figura 2.58*).

De otro lado, la disminución en la intensidad de la banda del espectro de infrarrojo a 580 cm^{-1} al pasar de **NPFT-Cu-2** a **NPFT-Cu-OH**, ha sido atribuida a la reacción del hidróxido sódico con los hidrógenos de los grupos HO-P=O (para dar probablemente $Na^+ {}^-O$-P=O), lo que explicaria el aumento de la relación sodio/titanio al pasar de **NPFT-Cu-2** (0,4) a **NPFT-Cu-OH** (0,7) detectada por **EDE** (**MET**).

2.2.4. Derivados de las NPFT con Plata.

Las nanopartículas **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2**, que contienen plata, fueron obtenidas al añadir **NPFT** (40 mg) sobre sendas disoluciones acuosas de $AgNO_3$ (29 mg, 0,17 mmoles) y de $Ag(CH_3COO)$ (28 mg, 0,17 mmoles) respectivamente en 17 mL de agua (lo que supone una concentración de 10 mM en sales de plata) y ser calentadas posteriormente a 50 °C durante 24 horas, todo ello en ausencia de luz.

Ambas mantienen la forma esférica y el diámetro medio del material de partida, **NPFT** (véase *Figura 2.62*). Sin embargo, lo más llamativo de las micrografías es la presencia de cúmulos de plata metálica, tal como sugiere la distancia interplanar de 2.38 Å (*2*θ= 37.8) detectada por difracción de electrones asociada al **MET** y que corresponde con el plano 111 de la plata metálica. Los datos de difracción de electrones no se refieren a toda la masa sino a zonas concretas de la micrografía, en nuestro caso a las zonas oscuras.

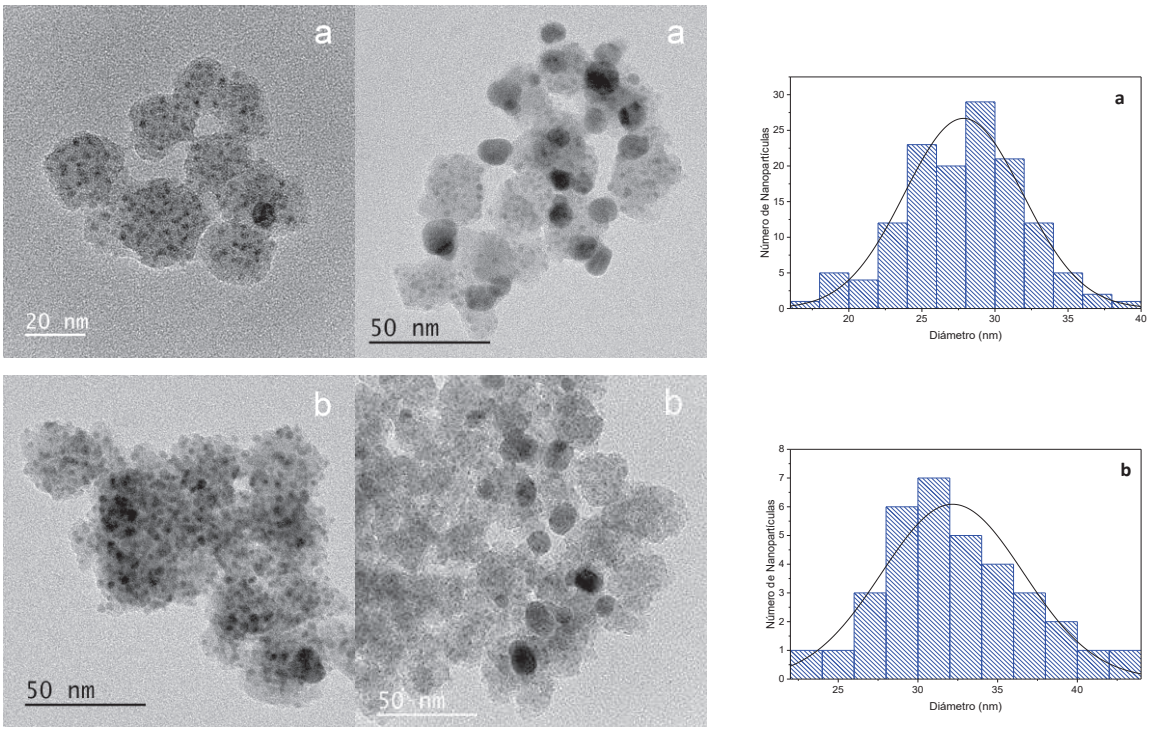


Figura 2.62. *Micrografías* ***MET*** *y distribución de tamaño de* ***NPFT-Ag-1*** *(a) y* ***NPFT-Ag-2*** *(b).*

La aparición de plata metálica es un tanto sorprendente puesto que, sabiendo que el catión Ag^+ se reduce a plata metálica con la luz, se tomaron todo tipo de precauciones para mantener las nanopartículas aisladas de la luz. Sin embargo, de forma independiente, las medidas electroquímicas no sólo confirmaron la presencia de plata metálica en las muestras recién preparadas sino indicaron que la presencia de Ag (0) aumenta con el paso del tiempo aunque las nanopartículas se guardasen fuera de la luz. Dado que no se ha logrado identificar la presencia de un reductor que explique la aparición de Ag (0) de forma satisfactoria, la única explicación razonable es la acción fugaz de la luz en alguna fase del proceso y que las nanopartículas sean muy sensibles a la luz, incluso a la de las lámparas del laboratorio.

De otro lado, de nuevo se observa que la utilización de los aniones acetato permite incrementar la inserción del ión metálico en las nanopartículas, pues la relación plata/titanio ha aumentado muy notablemente al pasar de **NPFT-Ag-1** (0,5) a **NPFT-Ag-2** (1,1).

Finalmente debe notarse la drástica disminución de sodio en las **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2** con respecto al **NPFT** inicial.

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Ag (%)	pH
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37	0,00	2,70
NPFT-Ag-1	66,18 ± 4,83	0,18 ± 0,46	17,6 ± 1,67	10,48 ± 1,72	5,56 ± 3,12	2,82
NPFT-Ag-2	57,55 ± 6,37	0,33 ± 0,38	17,44 ± 2,25	11,85 ± 1,86	12,84 ± 2,56	4,18

Tabla 2.13. *Composición (**EDE**) **NPFT**, **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2**.*

En la *Figura 2.63* se muestra el espectro de **IR** de las nuevas nanopartículas con plata. En los dos casos aparecen bandas debidas al agua, atribuida a la vibración de tensión del grupo OH a 3421 cm^{-1} y la de deformación H-O-H a 1640 cm^{-1}. La señal débil de 2960 cm^{-1} se debe a pequeñas cantidades de surfactante (docusato sódico), presentes en la muestra.

Las bandas a 1228, 581 y 508 han disminuido de intensidad a lo largo de la serie **NPFT**, **NPFT-Ag-1**, **NPFT-Ag-2**, lo que se puede interpretar como un progresivo intercambio de protón por iones Ag^+ en los fosfatos ácidos.

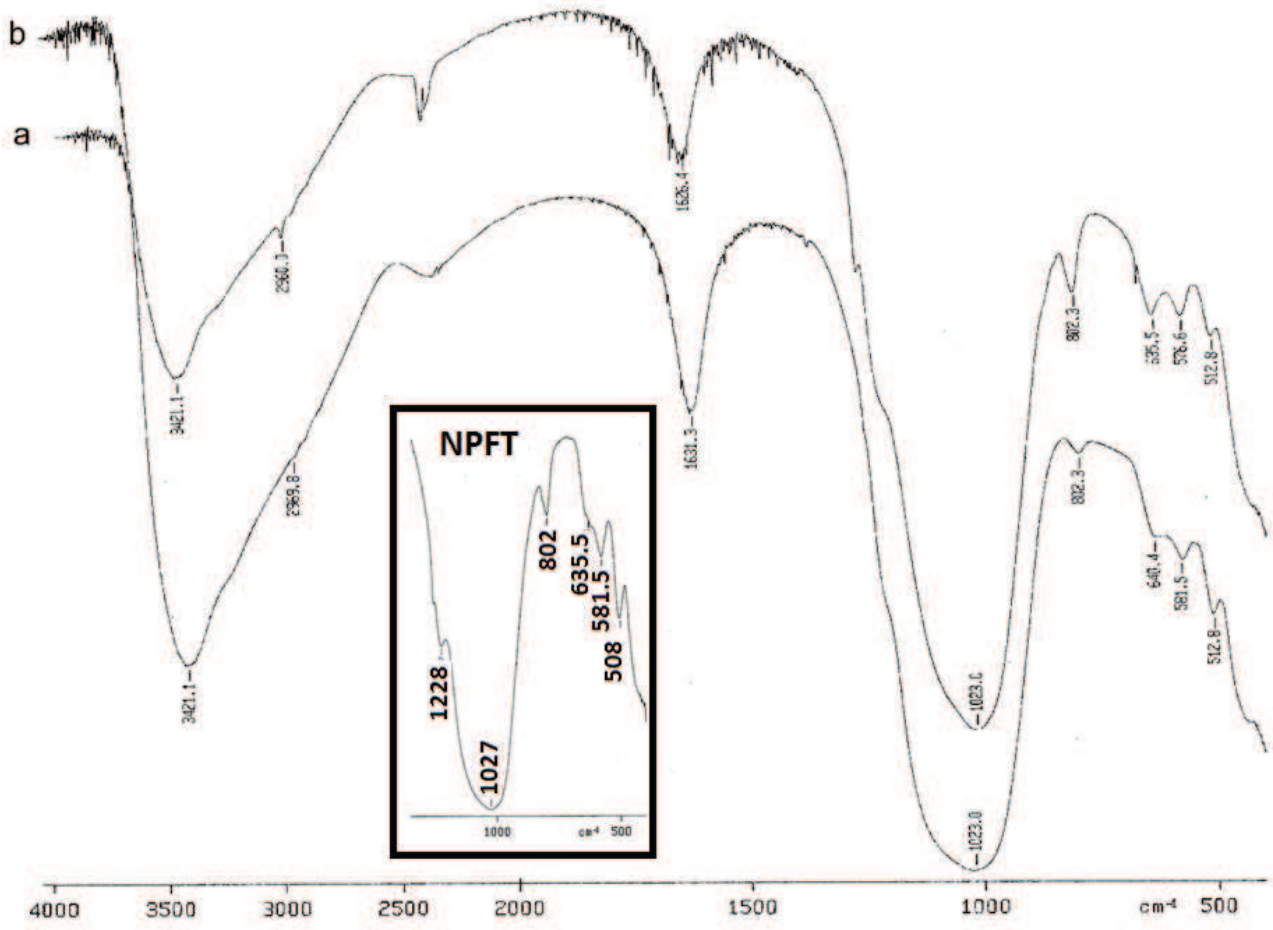


Figura 2.63. *Espectro de **IR** de **NPFT-Ag-1** (a) y **NPFT-Ag-2** (b)**.** En la imagen insertada se muestra un fragmento del espectro de **NPFT** a efectos comparativos.*

El espectro de RMN de P-31(s) de **NPFT-Ag-1** tiene un formato similar al del espectro de P-31(s) de **NPFT-Cd-1** (véase *Figura 2.26-b*), mientras que el espectro de P-31(s) de **NPFT-Ag-2** se diferencia marcadamente del espectro de P-31(s) de **NPFT-Cd-2** (véase *Figura 2.33-b*). Dado que se ha detectado por **EDE** (**MET**) la presencia de plata metálica se esperaba que las diferencias de los espectros de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Ag-1** y de **NPFT-Ag-2** con los espectros de RMN de P-31(s) de **NPFT-Cd-1** y de **NPFT-Cd-2** fueran aún más pronunciados.

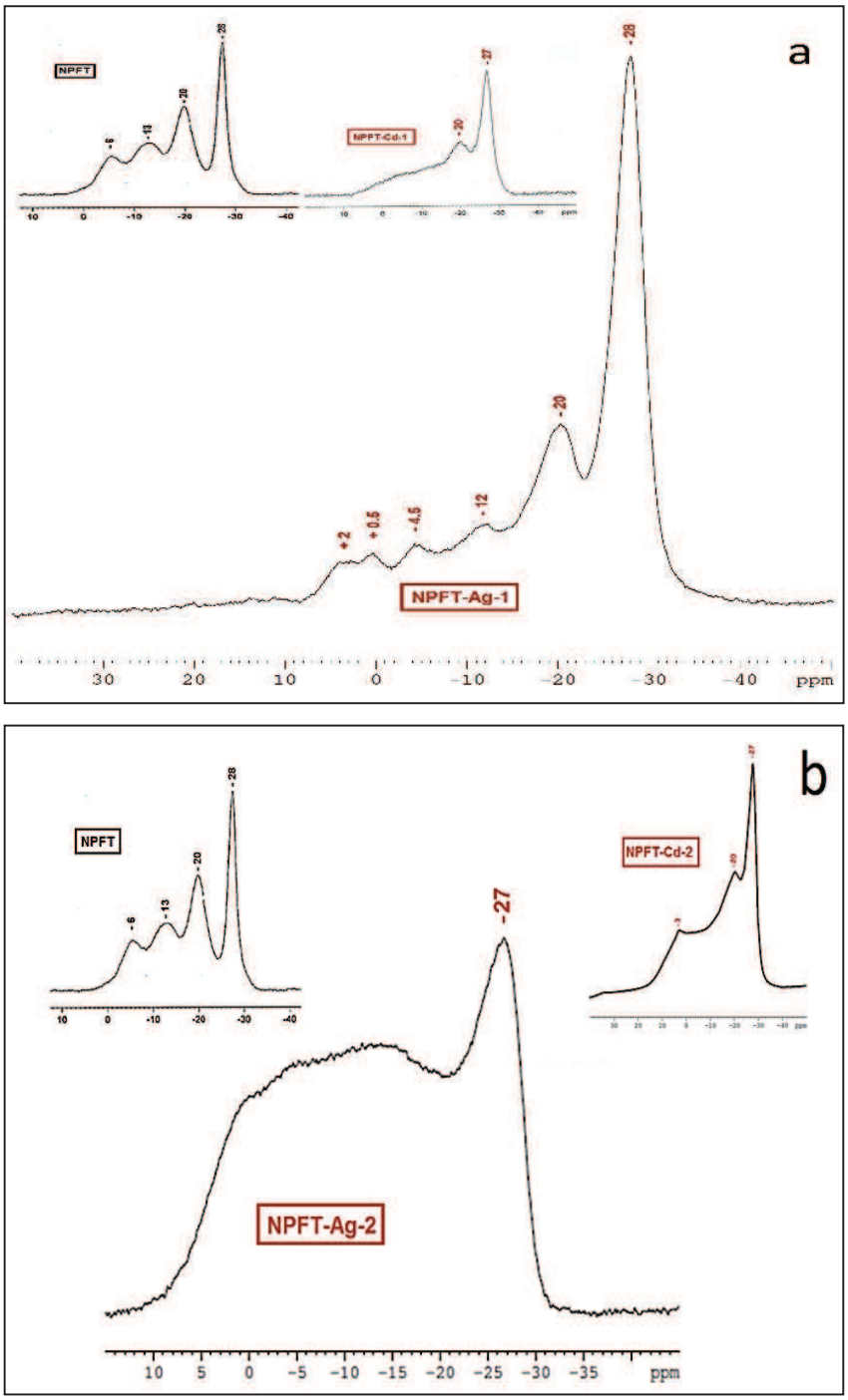


Figura 2.64. *Espectro de RMN (^{31}P) de las nanopartículas de fosfato de titanio funcionalizadas con nitrato de plata,* ***NPFT-Ag-1*** *(a) y acetato de plata,* ***NPFT-Ag-2*** *(b).*

Por otro lado comparando los espectros de P-31(s) de **NPFT-Ag-1** y de **NPFT-Ag-2** con el espectro de P-31(s) de **NPFT**, es evidente que los cambios se acentúan al pasar de las nanopartículas modificadas con nitrato de plata(I) a las nanopartículas modificadas con acetato de plata (I), lo que es común en todas las reacciones comentadas hasta ahora.

Todo ello indica la formación de nuevos fosfatos difíciles de imaginar y el mantenimiento de la señal a -27 ppm debería estar relacionado con la conservación parcial de la fase cristalina $NaTi_2(PO_4)_3$.

En el difractograma de **NPFT-Ag-1** la mayor parte de los picos son debidos a la fase $NaTi_2(PO_4)_3$, que ya es poco cristalina, pero unos pocos no (2θ = 33,4; 34,8 y 41,1). Además, la señal a 2θ=21 es más intensa de lo que corresponde al trifosfato de dititanio y sodio. El difractograma de **NPFT-Ag-2**, indica que en las nanopartículas aún está presente la fase $NaTi_2(PO_4)_3$, aunque mucho más amorfa, tal como señalan los picos a 2θ = 21; 24; 32,5; 37; 47, 50, pero la existencia de picos a 2θ = 17,8; 25,5; 41,0; 44,7; 72,4; 75,4 y aún la anómala intensidad de la señal a 2θ = 32,5 indican claramente que hay otra u otras fases cristalinas. Dado que la concentración de sodio en **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2** es más baja que en **NPFT** y que el sodio es reemplazable por la plata en $NaTi_2(PO_4)_3$,[43] es de suponer que en la formación de **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2** el trifosfato de dititanio y sodio no solo ha perdido cristalinidad sino que ha substituido algunos iones Na^+ por cationes Ag^+, originando nuevas fases.

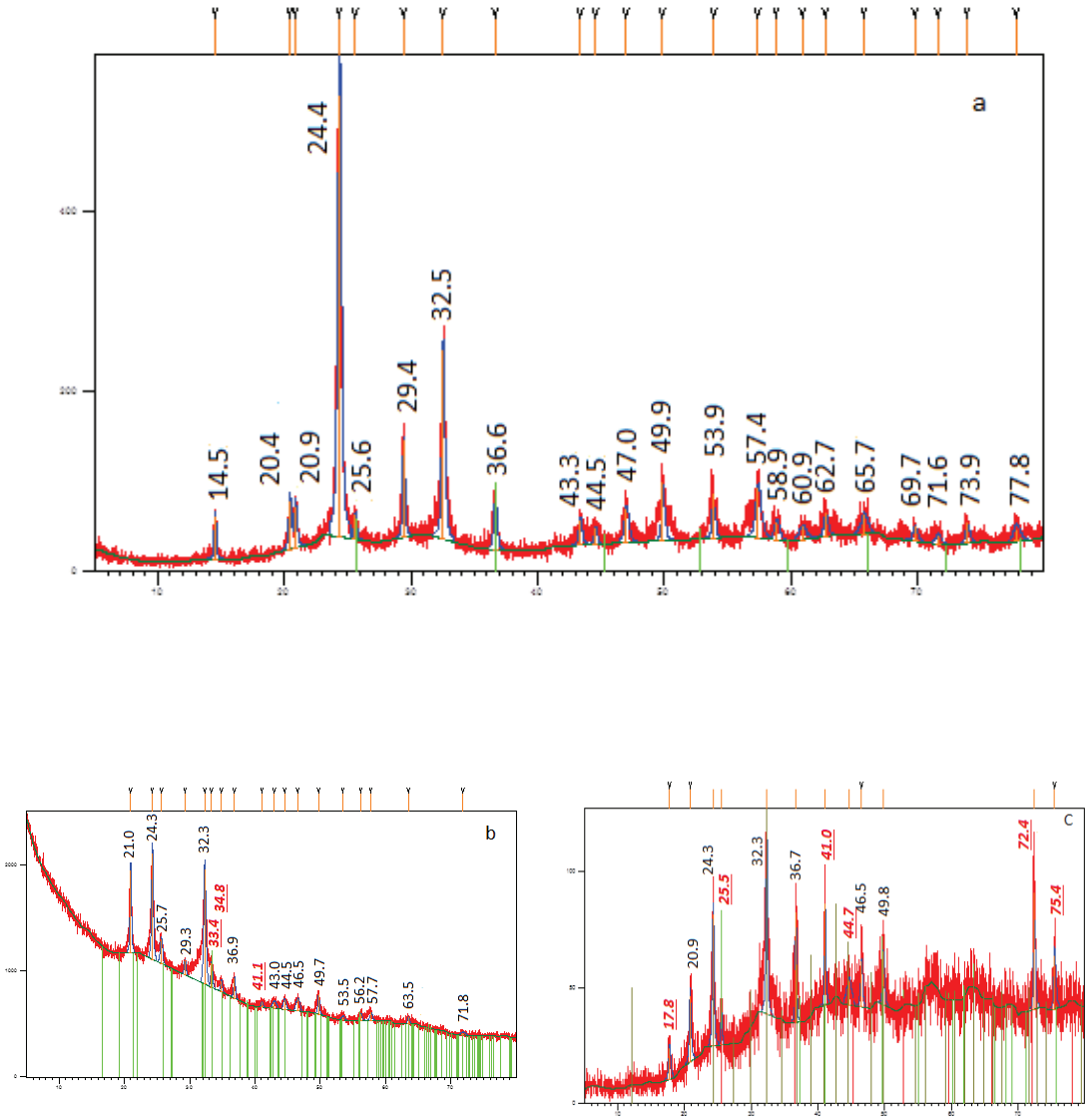


Figura 2.65. *Difractograma de rayos X de las nanopartículas de fosfato de titanio (a),* ***NPFT****, y funcionalizadas con nitrato de plata,* ***NPFT-Ag-1*** *(b) y acetato de plata,* ***NPFT-Ag-2*** *(c).*

Las medidas de difracción de electrones (ligadas al **MET**) de áreas correspondiente a zonas oscuras de las micrografías de **NPFT-Ag-1** y **NPFT-Ag-2** son mostradas en la *Figura 2.66.*

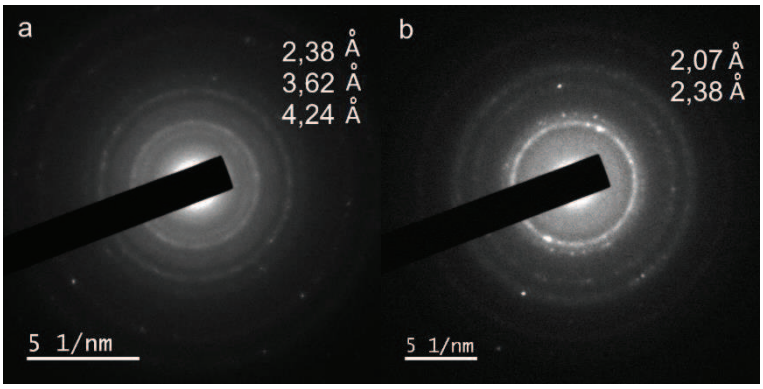


Figura 2.66. *Difracción de electrones de* ***NPFT-Ag-1*** *(a)* ***y NPFT-Ag-2*** *(b).*

El difractograma proveniente de **NPFT-Ag-1** muestra tres distancias interplanares; *2,38*; *3,62 y 4,24 Å* (asociadas a valores de 2θ = 37,8; 24,6 y 21,0 en la difracción de rayos X). La primera corresponde a la distancia entre planos 111 de la plata metálica. La segunda equivale a la señal más intensa de la fase cristalina $NaTi_2(PO_4)_3$ y aparece también en el difractograma de **NPFT-Ag-1** (*Figura 2.66*). La tercera corresponde a una señal del difractograma de **NPFT-Ag-1** que es demasiado intensa para coincidir con la señal a 2θ = 21 del difractograma de **NPFT** (*Figura 2.66*) por lo que probablemente sea debido a una nueva fase.

Por su parte en el difractograma de la *Figura 2.66-b,* el correspondiente a **NPFT-Ag-2**, aparecen señales correspondientes a distancias interplanares 2,07 y 2,38 Å, (asociadas a valores de 2θ = 43,7 y 37,8 en la difracción de rayos X) ambas debidas a la plata metálica. La primera es muy próxima a con la señal a 2θ = 43,3 del difractograma de **NPFT**, sin embargo esta es una señal muy débil como para que aparezca por difracción de electrones de un área tan pequeña.

2.3. Liberación de iones incorporados a NPFT.

2.3.1. Liberación de iones Cadmio.

Durante sus aplicaciones analíticas las nanopartículas de fosfato de titanio cargadas con cationes metálicos, que actúan como marcas de biosensores, son tratadas con un ácido para liberar los citados iones metálicos cuya concentración es medida a continuación. Por ello pareció necesario estudiar con detalle lo que ocurre a una muestra de Cd; **NPFT-Cd-2** y a otra de mercurio; **NPFT-Hg-2**, al ser tratadas con HCl 0,1 M.

Así, se pusieron en contacto **NPFT-Cd-2** (80 mg) con 5 ml de una disolución de ácido clorhídrico 0,1 M dando lugar a las nanopartículas **NPFT-Cd-2-HCl**, que fueron caracterizadas mediante **MET** (**EDE**), **IR**, **RMN** de P-31(s) y difracción de rayos X de polvo.

Las nuevas nanopartículas siguen siendo esféricas y tienen un diámetro de 30 nm.

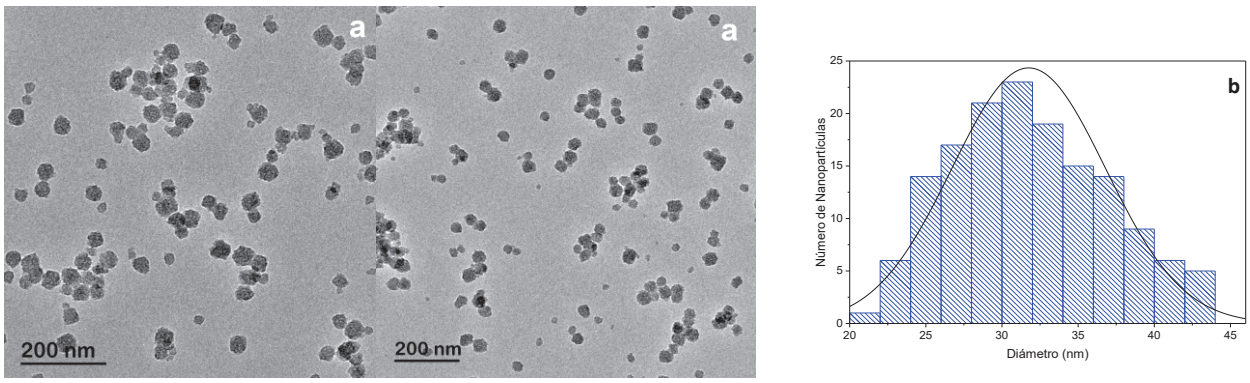


Figura 2.67. *a) Micrografías **MET** de **NPFT-Cd-2-HCl** (a) y su distribución de tamaños (b).*

Las nanopartículas **NPFT-Cd-2** pierden mucho Cd al ser tratadas con ácido clorhídrico 0,1 M, pero no todo, tal como revelan las medidas **EDE** (**MET**).

	O (%)	**Na (%)**	**P (%)**	**Ti (%)**	**Cd (%)**
NPFT-Cd-2	67,39 ± 0,39	1,59 ± 0,28	17,04 ± 0,10	7,26 ± 0,15	6,72 ± 0,12
NPFT-Cd-2-HCl	69,94 ± 1,55	1,73 ± 0,23	18,49 ± 1,02	9,17 ± 0,62	0,67 ± 0,22

Tabla 2.14. *Composición media de las nanopartículas* ***NPFT-Cd-2*** *y* ***NPFT-Cd-2-HCl*** *obtenidas por* ***EDE*** *(****MET****).*

Los cationes Cd^{2+} perdidos por **NPFT-Cd-2** al ser tratado con ácido clorhídrico debieran ser reemplazados por los protones del ácido. Pues bien, el espectro de **IR** de **NPFT-Cd-2-HCl**, *Figura 2.68*, especialmente en la zona 500-700 cm^{-1} parece avalar esta hipótesis. En efecto, al pasar de **NPFT-Cd-2** (*Figura 2.68-insercción derecha*) a **NPFT-Cd-2-HCl**, *Figura 2.68*, se observa que han aumentado las intensidades de las bandas a 580 y 513 cm^{-1} asignadas a los fosfatos ácidos. En todo caso, no se llega a recuperar completamente el formato del compuesto de partida **NPFT** (*Figura 2.68-insercción izquierda*), probablemente en consonancia con la existencia de restos de cadmio detectados en **NPFT-Cd-2-HCl** por **EDE**(**MET**), *Tabla 2.14.*

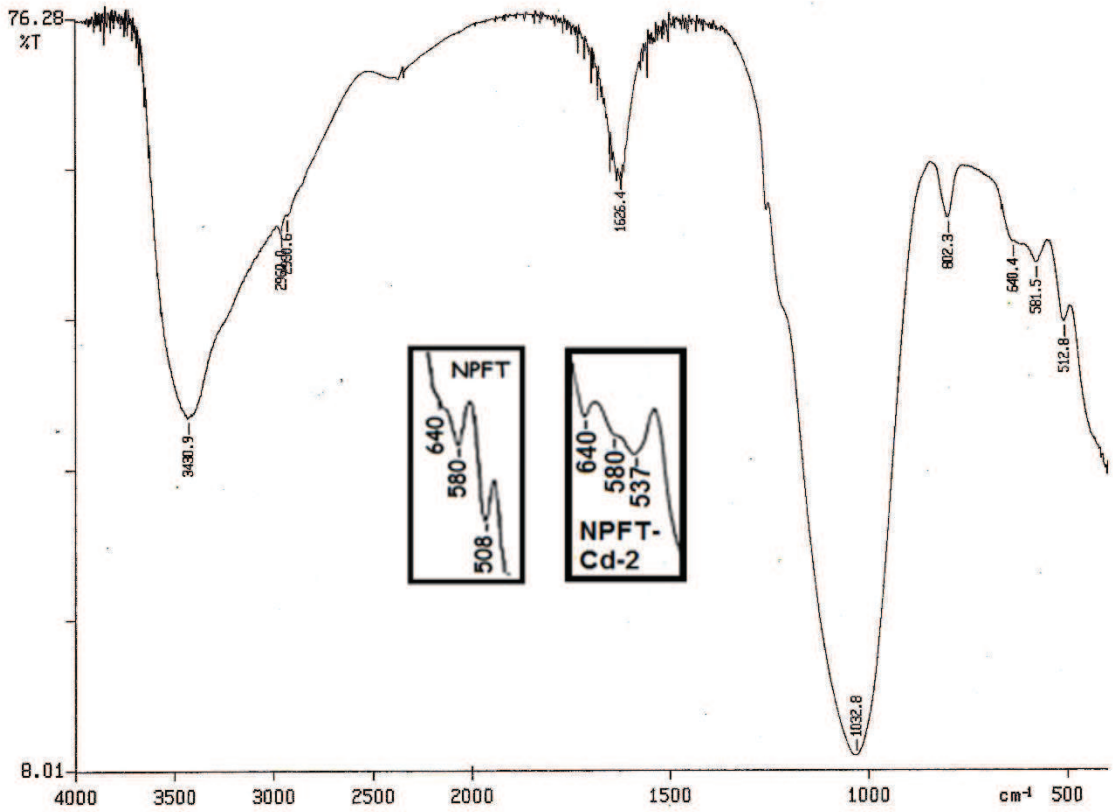


Figura 2.68. *Espectro* ***IR*** *de* ***NPFT-Cd-2-HCl****. Inserciones de* ***NPFT*** *y* ***NPFT-Cd-2****.*

Por la misma razón, en el **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-2-HCl**, mostrado en la *Figura 2.69,* se aprecia la recuperación parcial de las señales atribuidas a los dihidrógenofosfatos (-5, -13 ppm) que habían desaparecido en el espectro de P-31(s) de **NPFT-Cd-2** (*Figura 2.69-insercción izquierda).* De todas formas no se llega a obtener el espectro del **NPFT**, el compuesto de partida, cuyo espectro puede contemplarse en la *Figura 2.69-insercción derecha*.

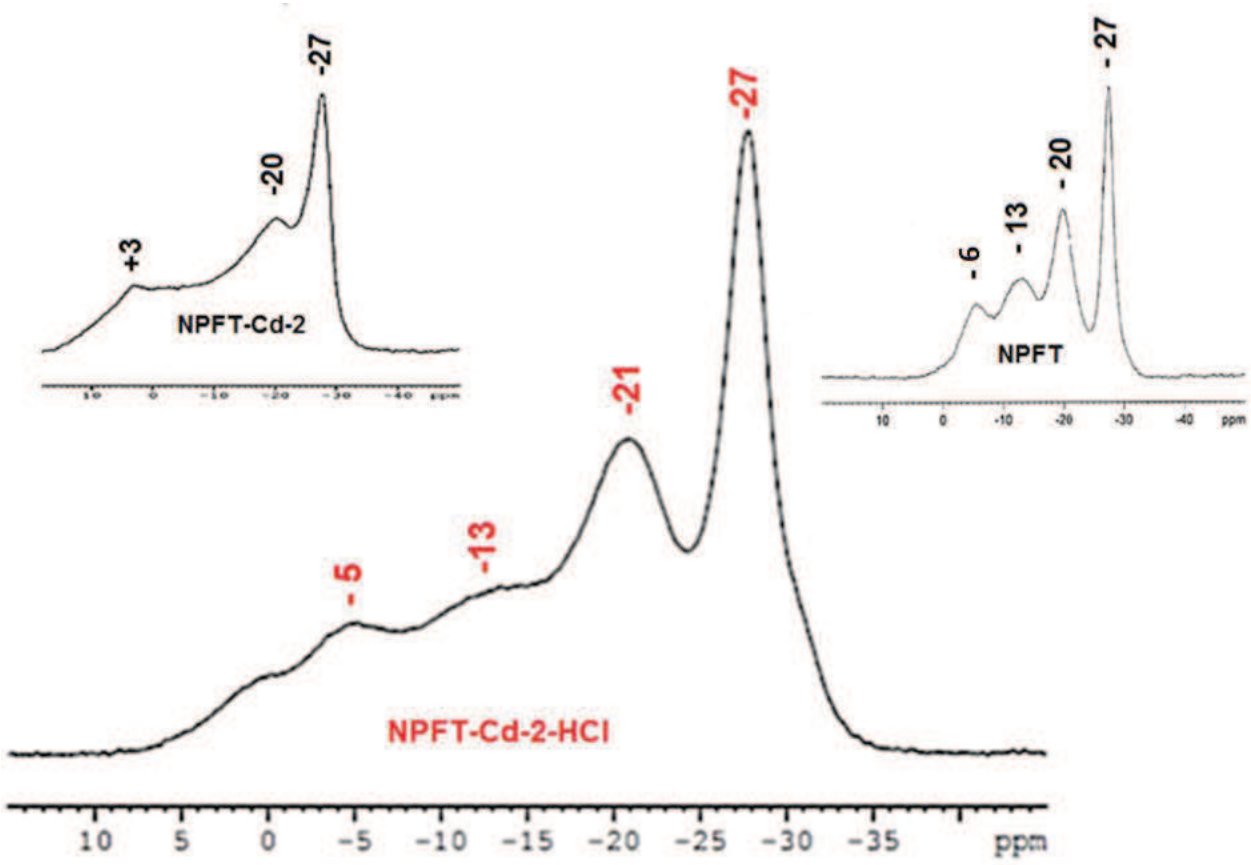


Figura 2.69. *Espectro* ***RMN*** *de P-31(s) de* ***NPFT-Cd-2-HCl*** *con dos inserciones, una a la izquierda de* ***NPFT-Cd-2****, otra a la derecha, de* ***NPFT****.*

De forma paralela, el difractograma de **NPFT-Cd-2-HCl** (*Figura 2.70-c*) ha recuperado algo de la cristalinidad original de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ del **NPFT** (*Figura 2.70-a*) que se habia trastocado de forma notable en **NPFT-Cd-2** (*Figura 2.70-b*). En efecto al pasar del difractogram de **NPFT-Cd-2** al difractograma de **NPFT-Cd-2-HCl**, disminuye la parte amorfa, desaparece la señal a 2θ = 27,5 y 31,5 que no son de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ y las intensidades de las señales a valores altos de 2θ se parecen más a las de la fase cristalina inicial (*Figura 2.70)*.

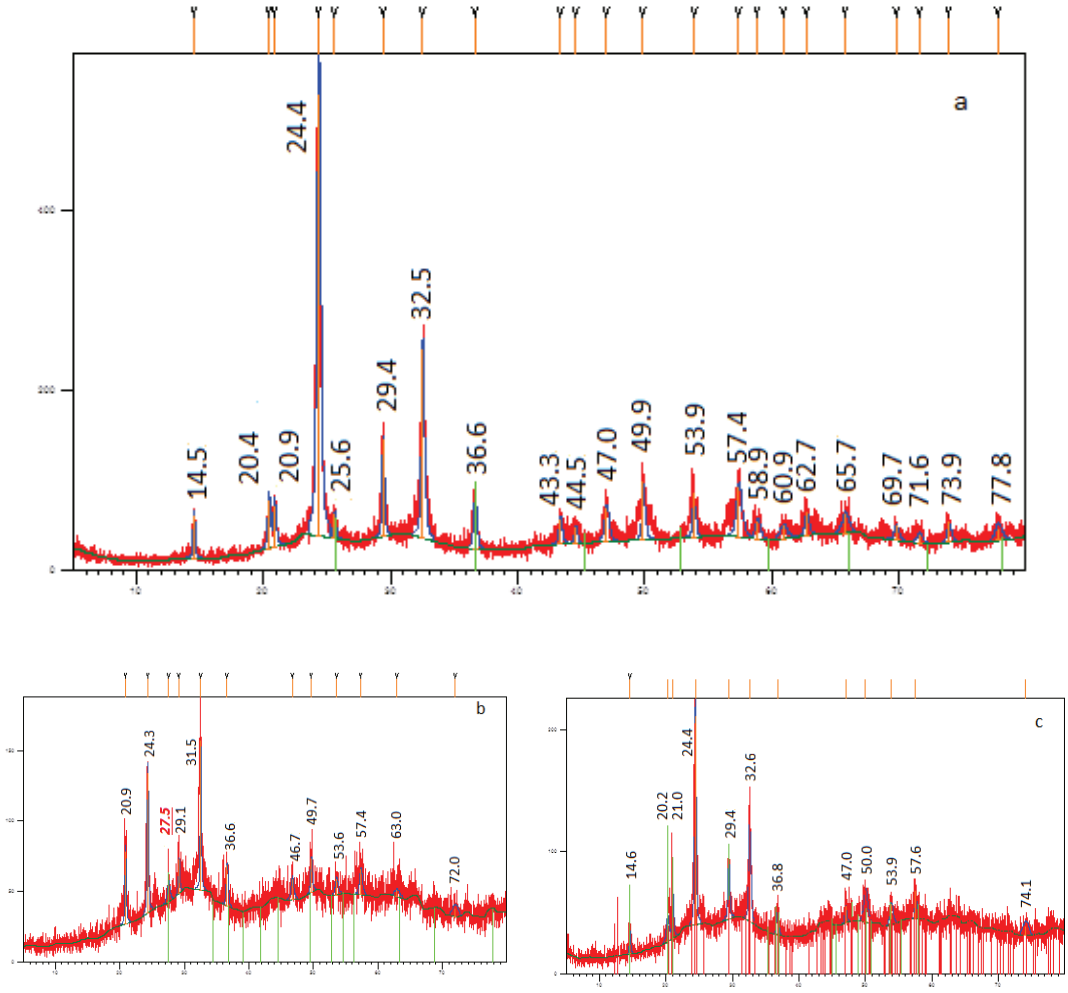


Figura 2.70. *Difractograma de rayos X de* ***NPFT*** *(a),* ***NPFT-Cd-2*** *(b) y* ***NPFT-Cd-2-HCl*** *(c).*

Las medidas de difracción de electrones no son de gran ayuda en este caso, pues las distancias interplanares y sus correspondientes valores asociados de *2*θ en la difracción de rayos X no son muy diferentes; 3,67 (*2*θ =24,3) y 4,31 Å (*2*θ =20,6) para **NPFT-Cd-2-HCl** y 3,62 (*2*θ =24,6) y 4,19 Å (*2*θ =21,2) para **NPFT-Cd-2** (*Figura 2.71*).

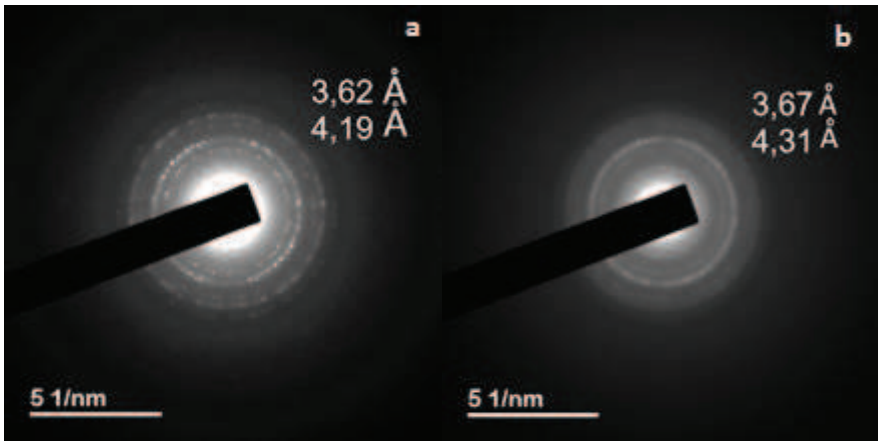


Figura 2.71. *Difracción de electrones de* ***NPFT-Cd-2*** *(a) y* ***NPFT-Cd-2-HCl*** *(b).*

La recuperacion parcial de la fase cristalina en **NPFT-Cd-2-HCl** también puede observarse en sus medidas de fluorescencia. Así la señal de 720 nm aumenta al pasar de **NPFT-Cd-2** (40 %) a **NPFT-Cd-2-HCl** (60 %) aunque todavia está lejos de la señal correspondiente al **NPFT**.

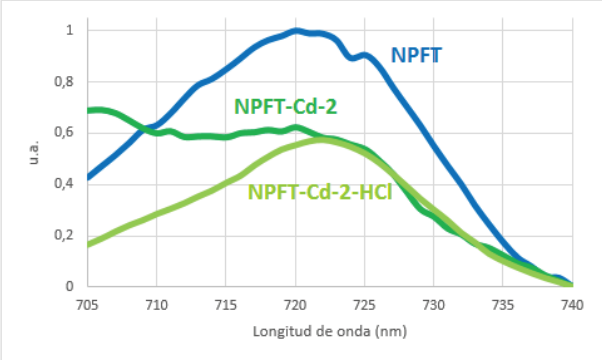


Figura 2.72. *Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas* ***NPFT, NPFT-Cd-2*** *y* ***NPFT-Cd-2-HCl****.*

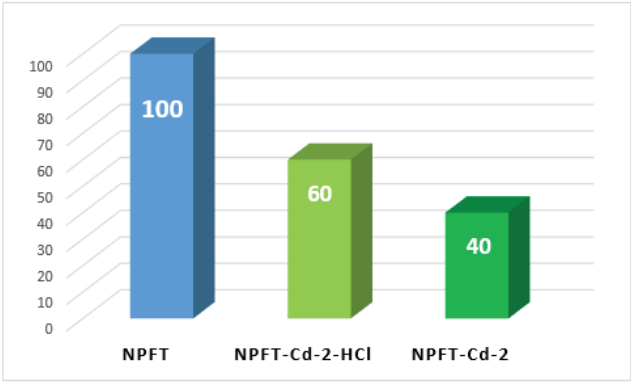


Figura 2.73. *Porcentaje de las áreas de la señal a 720 nm en el espectro de fluorescencia de* ***NPFT, NPFT-Cd-2*** *y* ***NPFT-Cd-2-HCl****.*

Llegados a este punto pareció estudiar cuantitativamente lo que ocurre con el Cadmio a lo largo de todo el proceso de su incorporación a las nanopartículas y su posterior liberación. Para ello contamos con la colaboración del Dr. Daniel Martín Yerga, quien hizo las mediciones de contenido del Cadmio en disolución a través de medidas electroquímicas. Para realizar el seguimiento del Cadmio, se añadieron 40 mg de **NPFT** a una disolución de 0,17 mmoles de acetato de Cadmio dihidratado, y se calentó la suspensión a 50 °C durante 24 horas.

Posteriormente, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente la disolución y se centrifugó para separar las nanopartículas del sobrenadante. Se midió el contenido de Cadmio en el sobrenadante resultando ser de 0,08 ± 0,01 mmoles de Cadmio. El sólido obtenido fue lavado (3x5 mL de agua) y tratado en medio ácido (HCl 0,1 M, 60 segundos) para liberar el Cadmio, que es 0,070 ± 0,002 mmoles. Finalmente, las nanopartículas son nuevamente tratadas en medio ácido (HCl 0,1 M, 24 horas) para eliminar de forma definitiva todo el Cadmio retenido, quedando en este nuevo sobrenadante 0,034 ± 0,007 mmoles de Cadmio.

Todo ello confirma, dentro de los errores experimentales, que en la formación de **NPFT-Cd-2-HCl** se añadió un exceso de Cadmio al **NPFT** (entraron 0,09 mmoles y quedaron fuera 0,08 mmoles). Y, en segundo lugar, que el tratamiento de **NPFT-Cd-2** con HCl 0,1 M, durante sólo 60 segundos no libera todo el Cadmio (II) existente en las nanopartículas, pero si suficiente para los propósitos analíticos buscados.

2.3.2. Liberación de iones Mercurio.

Al poner en contacto **NPFT-Hg-2** (80 mg) con 5 ml de una disolución de ácido clorhídrico 0,1 M se generan las nanopartículas **NPFT-Hg-2-HCl**, que fueron caracterizadas mediante **MET** (**EDE**), **IR**, **RMN** de P-31(s) y difracción de rayos X de polvo, además de hacer un seguimiento electroquímico del Mercurio a lo largo de los diferentes procesos.

Las nuevas nanopartículas, **NPFT-Hg-2-HCl**, mantienen la forma cuasi-esférica y el diámetro (unos 30 nm) de sus predecesoras, véase *Figura 2.74*. Sin embargo en las micrografías no se observan cúmulos de mercurio, lo que está de acuerdo con la desaparición del Hg detectada por las medidas **EDE** (**MET**), véase *Tabla 2.15,* y con las medidas electroquímicas. También es llamativa la desaparición del sodio en **NPFT-Hg-2-HCl**.

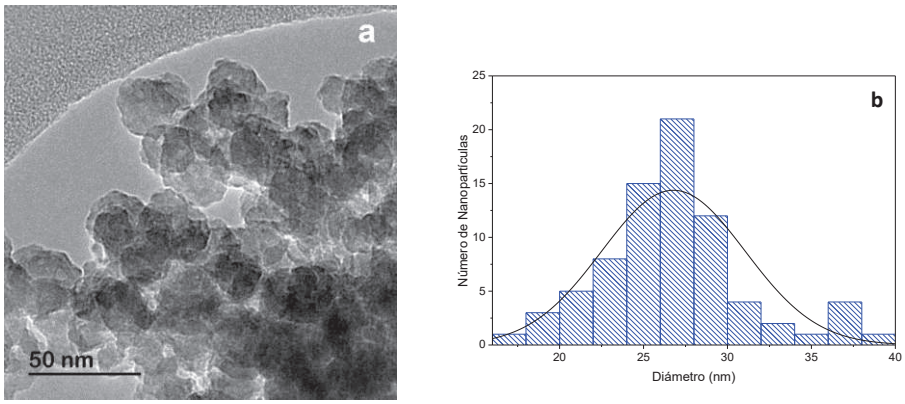


Figura 2.74. *Micrografía* ***MET*** *de* ***NPFT-Hg-2-HCl*** *(a) y distribución de tamaño (b).*

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Hg (%)
NPFT-Hg-2	70,00 ± 2,33	1,29 ± 0,19	18,67 ± 1,51	7,90 ± 0,70	2,14 ± 0,20
NPFT-Hg-2-HCl	61,29 ± 6,49	0,00 ± 0,00	21,78 ± 3,54	16,94 ± 3,28	0,00 ± 0,00

Tabla 2.15. *Composición (%átomos) de* ***NPFT-Hg-2*** *y* ***NPFT-Hg-2-HCl****.*

Al igual que ocurría en el caso del cadmio, los protones han debido desplazar a los cationes Hg^{2+} en las nanopartículas **NPFT-Hg-2** como sugieren los cambios observados en el espectro infrarrojo de **NPFT-Hg-2-HCl**, véase *Figura 2.75*. Así, las intensidades de las bandas a 580 y 513 cm^{-1}, atribuidas a los fosfatos ácidos, han crecido al pasar del infrarrojo de **NPFT-Hg-2** (*Figura 2.75-inserción derecha*) al infrarrojo de **NPFT-Hg-2-HCl**. Con todo, no se recupera el formato de **NPFT** (*Figura 2.75-insercción izquierda*) debido quizás a que la introducción de los cationes de mercurio (II) produjo una profunda reorganización de las estructuras de **NPFT** que ya no es posible recuperar con la simple sustitución de Hg^{2+} por los protones.

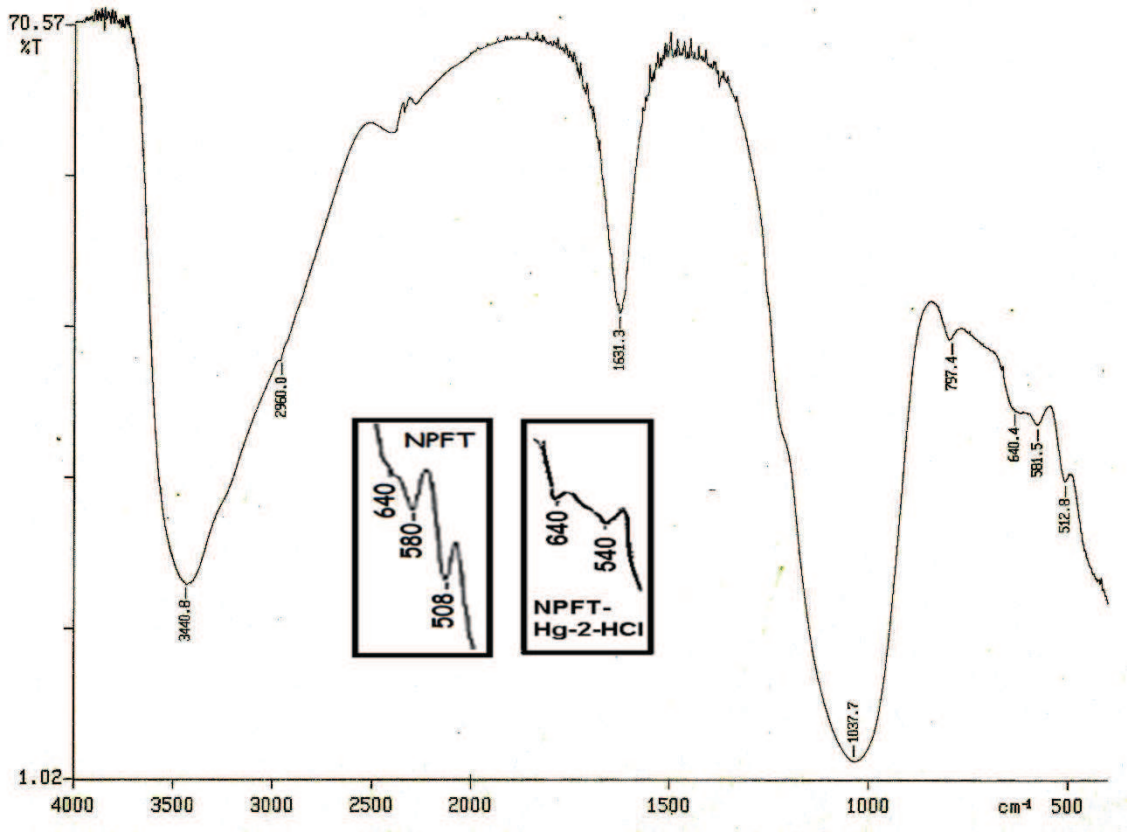


Figura 2.75. *Espectro de* ***IR*** *de* ***NPFT-Hg-2-HCl*** *con inserciones de* ***NPFT*** *(izq.) y* ***NPFT-Hg-2****(dcha.)*

Al pasar del espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Hg-2** (*Figura 2.76-insercion izquierda*) al correspondiente espectro de **NPFT-Hg-2-HCl** (*Figura 2.76*) se observan como reaparecen las señales atribuidas a los dihidrógenofosfatos (a - 5 y – 13 ppm) y se recupera la señal del hidrogenofosfato a -21 ppm. Esto encaja bien con la sustitucion de cationes mercurio (II) por protones. Ahora bien, como la reorganización estructural de las **NPFT** al reaccionar con $Hg(CH_3COO)_2$ fue muy considerable, no ha sido posible recuperar las **NPFT** originales al tratar **NPFT-Hg-2** con HCl (0,1M), pues el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT** (*Figura 2.76-insercion derecha*) todavia difiere del espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Hg-2-HCl** (Figura 2.76).

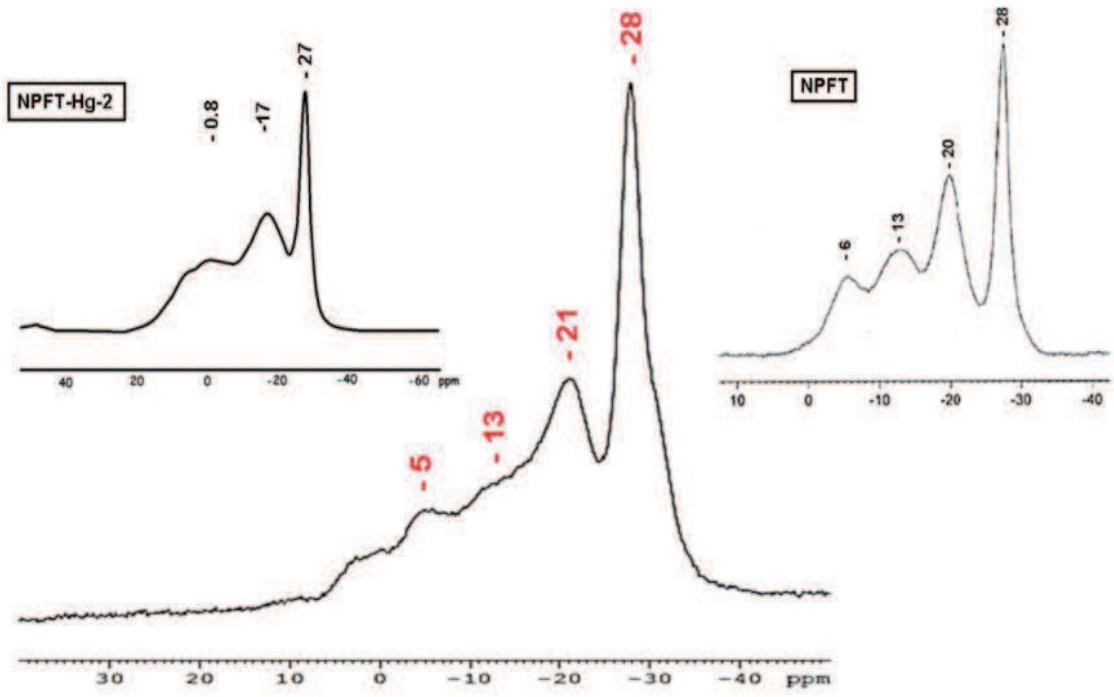


Figura 2.76. *Espectro de* ***RMN*** *de P-31(s) de* ***NPFT-Hg-2-HCl*** *con inserciones conteniendo los RMN de P-31 de* ***NPFT-Hg-2*** *(izq.) y* ***NPFT*** *(dcha.)*

Al comparar el difractograma de **NPFT-Hg-2-HCl**, *Figura 2.77-c*, con el difractograma de **NPFT-Hg-2**, *Figura 2.77-b*, puede observarse como se recupera parte de la cristalinidad de $NaTi_2(PO_4)_3$, cuyo difractograma aparece en la *Figura 2.77-a.* Sin embargo, el difractograma de **NPFT-Hg-2-HCl**, *Figura 2.77-c*, presenta muchas más señales que no pertenecen a la fase $NaTi_2(PO_4)_3$, al menos las señales a $2\theta \approx$ 18; 21,5; 28,2; 40,3; 43,8; 46,2; 75,8; que son bastante intensas. De hecho la práctica desaparición de los átomos de sodio en **NPFT-Hg-2-HCl** detectada por **EDE** (**MET**), *Tabla 2.15*, sugería que no se habría podido recuperar la fase $NaTi_2(PO_4)_3$. El difractograma de **NPFT-Hg-2-HCl** sugiere que algo de $NaTi_2(PO_4)_3$ debe haber en **NPFT-Hg-2-HCl** aunque en baja proporción.

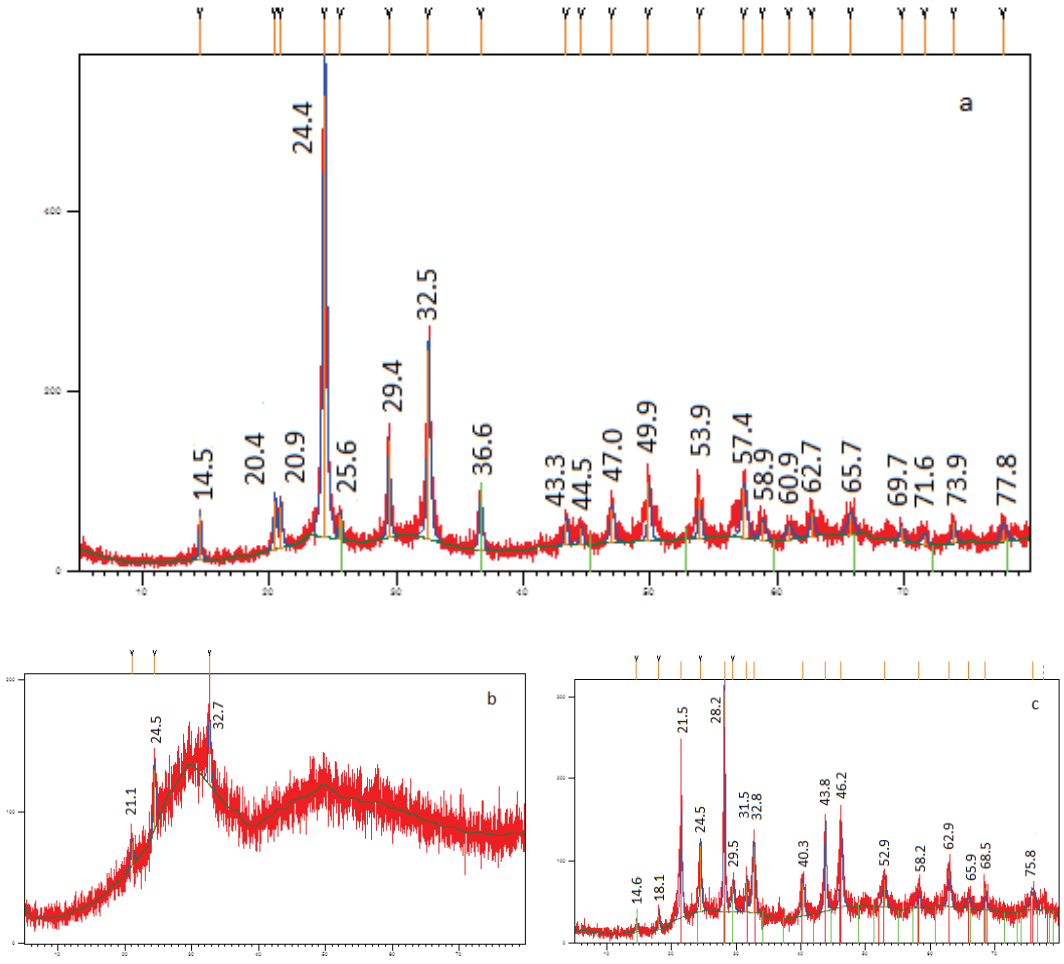


Figura 2.77. *Difractograma de rayos X de polvo de* ***NPFT*** (a)*,* ***NPFT-Hg-2*** *(b) y c)* ***NPFT-Hg-2-HCl*** *(c).*

Las medidas de difracción de electrones obtenidas (*Figura 2.78*) parecen indicar que la fase $NaTi_2(PO_4)_3$, cuyo pico principal aparece a *2*θ =24,4 en la difracción de rayos X, está más presente en **NPFT-Cd-2-HCl** 3,68 Å (*2*θ =24,2 en la difracción de rayos X).

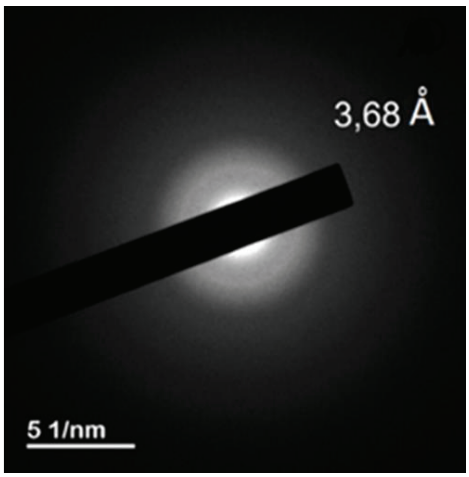


Figura 2.78. *Difracción de electrones de* ***NPFT-Hg-2-HCl****.*

Por su parte, la fuerte recuperación de la señal de 720 nm que se aprecia en las medidas de fluorescencia de **NPFT-Hg-2-HCl** (al compararla con la intensidad de la misma banda detectada para **NPFT-Hg-2**) (véanse *Figura 2.79* y *Figura 2.80*) no puede ser atribuida a la recuperación de la fase cristalina $NaTi_2(PO_4)_3$, que, tal como se advirtió en el párrafo anterior, deber claramente minoritaria. Por ello debe concluirse que la nueva o nuevas fases cristalinas también son fluorescentes en la misma zona.

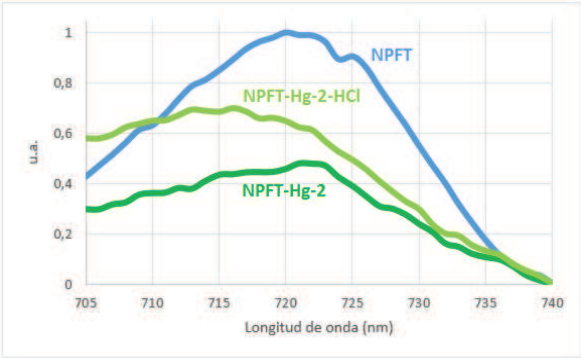


Figura 2.79. *Espectro de fluorescencia (705-740 nm) de las nanopartículas* ***NPFT****,* ***NPFT-Hg-2*** *y* ***NPFT-Hg-2-HCl****.*

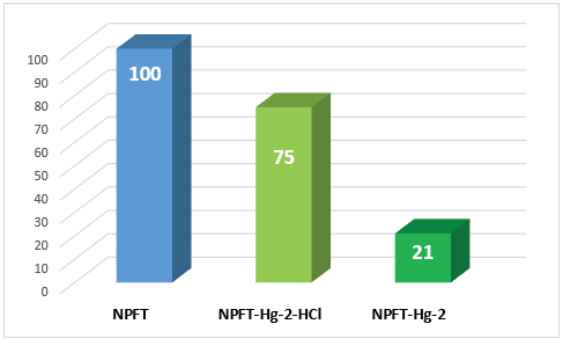


Figura 2.80. *Porcentajes de las áreas de la señal de 720 nm de las nanopartículas de* ***NPFT****,* ***NPFT-Hg-2*** *y* ***NPFT-Hg-2-HCl****.*

Una evidente conclusión de la discusión anterior es que los procesos de intercambio de protones en **NPFT** por acetato de cadmio (II) y por acetato de mercurio (II) son bastante diferentes.

Como se hizo con el Cadmio también pareció apropiado estudiar cuantitativamente lo que ocurre con el Mercurio a lo largo de todo el proceso de incorporación a las **NPFT** y su posterior liberación. Por ello, se añadieron 40 mg de **NPFT** a una disolución de 0,17 mmoles de acetato de Mercurio, y se calentó la suspensión a 50 °C durante 24 horas. Posteriormente, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente la disolución y se centrifugó para separar las nanopartículas del sobrenadante donde se encontraron 0,086 ± 0,004 mmoles de Mercurio. El sólido obtenido anteriormente fue lavado (3x5 mLde agua) y tratado en medio ácido (HCl 0,1M, 60 segundos) para liberar el Mercurio; en el sobrenadante se encontraron 0,035 ± 0,006 mmoles de Mercurio. Finalmente, las nanopartículas son nuevamente tratadas en medio ácido (HCl 0,1M, 24 horas) para eliminar todo el Mercurio retenido, detectándose en la suspensión 0,018 mmoles de Mercurio.

En este caso, la suma de los milimoles detectados en disolución es ligeramente inferior a los milimoles añadidos al principio. Hasta el momento no hemos encontrado una explicación satisfactoria a este hecho.

Por otra parte, se ha podido comprobar que la detección electroquímica de Mercurio es más sensible que la detección a través de **EDE**. Según **MET** (**EDE**) no había ya Mercurio en **NPFT-Hg-2-HCl**, pero estas nanopartículas contenían todavía 0,018 mmoles de Mercurio.

2.4. Incorporación de compuestos aminados a NPFT.

Tal como se indicó en la introducción, las **NPFT** son utilizadas como puntos de anclaje de distintas proteínas. En la bibliografía[2, 3, 4] se venía utilizando un método en tres pasos usando sucesivamente polialilamina, luego glutaraldehido y finalmente la proteína deseada, tal como se explicó con detalle en la introducción (Página 6) y como se recoge en la *Figura 2.81*.

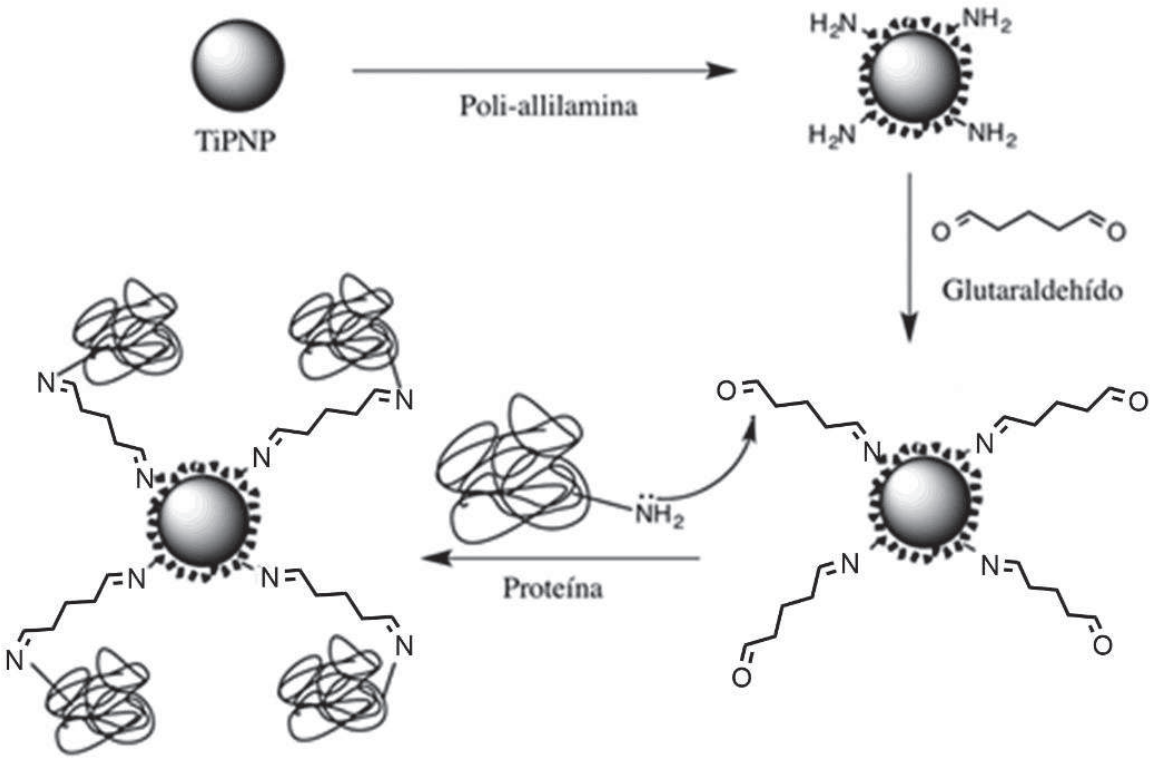


Figura 2.81. Posible esquema de la formación de enlaces covalentes entre las NPFT y las proteínas utilizando polialilamina y glutaraldehido.

En el laboratorio del Prof. A. Costa García, el Dr. Martin Yerga empezó a utilizar como método alternativo un procedimiento en un solo paso, (sin aislar intermedios) usando como material auxiliar imidazol y **EDC** (N-Etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida).[66] La reacción parece seguir el esquema descrito en la *Figura 2.82*.

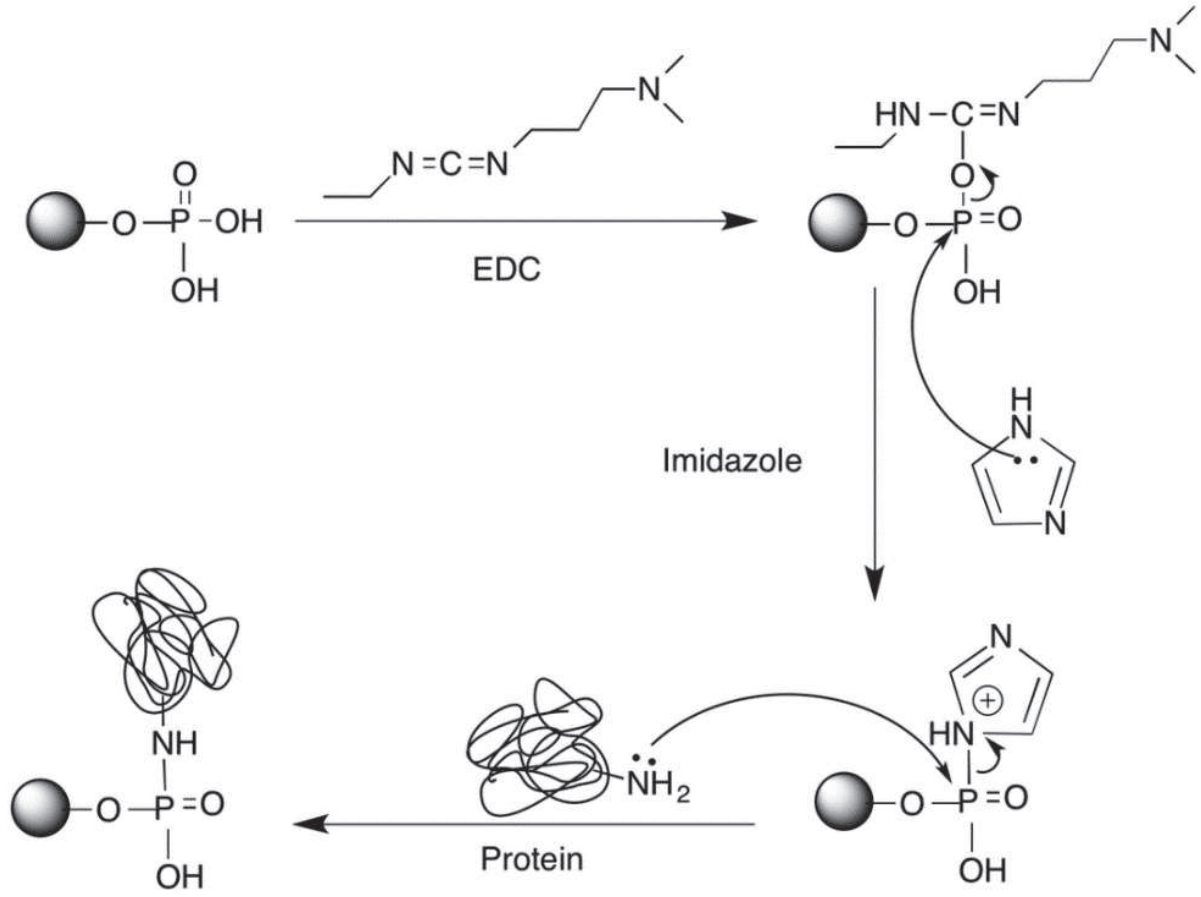


Figura 2.82. Posible esquema de la formación de enlaces covalentes entre las **NPFT** y las proteínas utilizando **EDC** e imidazol.

Por ello parecía oportuno comprobar el tipo de enlace entre las proteínas y las nanopartículas **NPFT** cuando se emplea el imidazol y la **EDC** como especie activadoras. Teniendo en cuenta tanto el precio de las proteínas como la dificultad de seguir sus reacciones por los medios tradicionales se decidió elegir una amina primaria, RNH_2, como modelo adecuado, ya que en ambos casos (proteínas y aminas) el grupo reactivo es el $-NH_2$. Tras varios tanteos se escogió la n-octilamina, tanto por su escasa solubilidad en agua, que le impide generar medios muy básicos que acaban con las **NPFT**, como por poseer muchos grupos CH_2 que son fáciles de seguir por las técnicas habituales, especialmente **IR** y **RMN**.

Para obtener las nanopartículas cargadas con n-octilamina, **NPFT-OA-1**, el procedimiento es un poco laborioso. Inicialmente conviene preparar una disolución de 0,1 M de imidazol en agua a la que se añade ácido clorhídrico hasta que la disolución tenga un pH igual a 6, (disolución A). También conviene disponer de otra disolución, denominada disolución B, que tenga una concentración 266 mM de n-octilamina en la disolución A. Después se añade una dispersión de 4 mg de EDC y 15 mg de **NPFT** a 600 µL de la disolución A y se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente 4 horas y después se le adicionan 500 µL de la disolución B para que la concentración final en n-octilamina sea 121 mM. Seguidamente se agita la mezcla dos días a temperatura ambiente. Finalmente se separa el producto final por centrifugación, se lava con agua y etanol y agua y se seca a vacío.

Las nuevas nanopartículas **NPFT-OA-1** fueron caracterizadas por **IR** y **RMN**.

Su espectro **IR** es mostrado en la *Figura 2.83.* En él se pueden detectar las bandas anchas debidas a las vibraciones de tensión O–H (a 3421 cm^{-1}) y de deformación H-O-H (a 1630 cm^{-1}) del agua. Los grupos CH_2 y CH_3 de la n-octilamina originan los picos a 2920 y 2842 cm^{-1} típicos de la tensión C alquílico-H y a 1464 cm^{-1} propio de la deformación CH_2.

El hombro hacia 1600 cm^{-1} y las bandas a 1503 y 1464 cm-1 se parecen mucho a las bandas del cloruro de n-octilamonio en la misma zona (véase la imagen insertada a la izquierda en la *Figura 2.83*). También se puede asignar al octilamonio las bandas hacia 3200 y 3020 cm^{-1} debidas a la tensión N-H de los grupos RNH_3^+. Estos datos sugieren que hubo una transferencia de protones de los grupos fosfatos ácidos de la nanopartículas a la n-octilamina y que se han formado pares iónicos octilamonio/fosfato, reteniéndose así la amina en la periferia de la nanopartícula. Se ha comprobado en un experimento adicional que el fosfato de octilamonio que se podría haber formado entre el H_3PO_4 libre- resultado de la hidrólisis de NPFT- y la n-octilamina es soluble en agua. Por ello, el posible fosfato de octilamonio formado se habría eliminado al lavar con agua las nanopartículas.

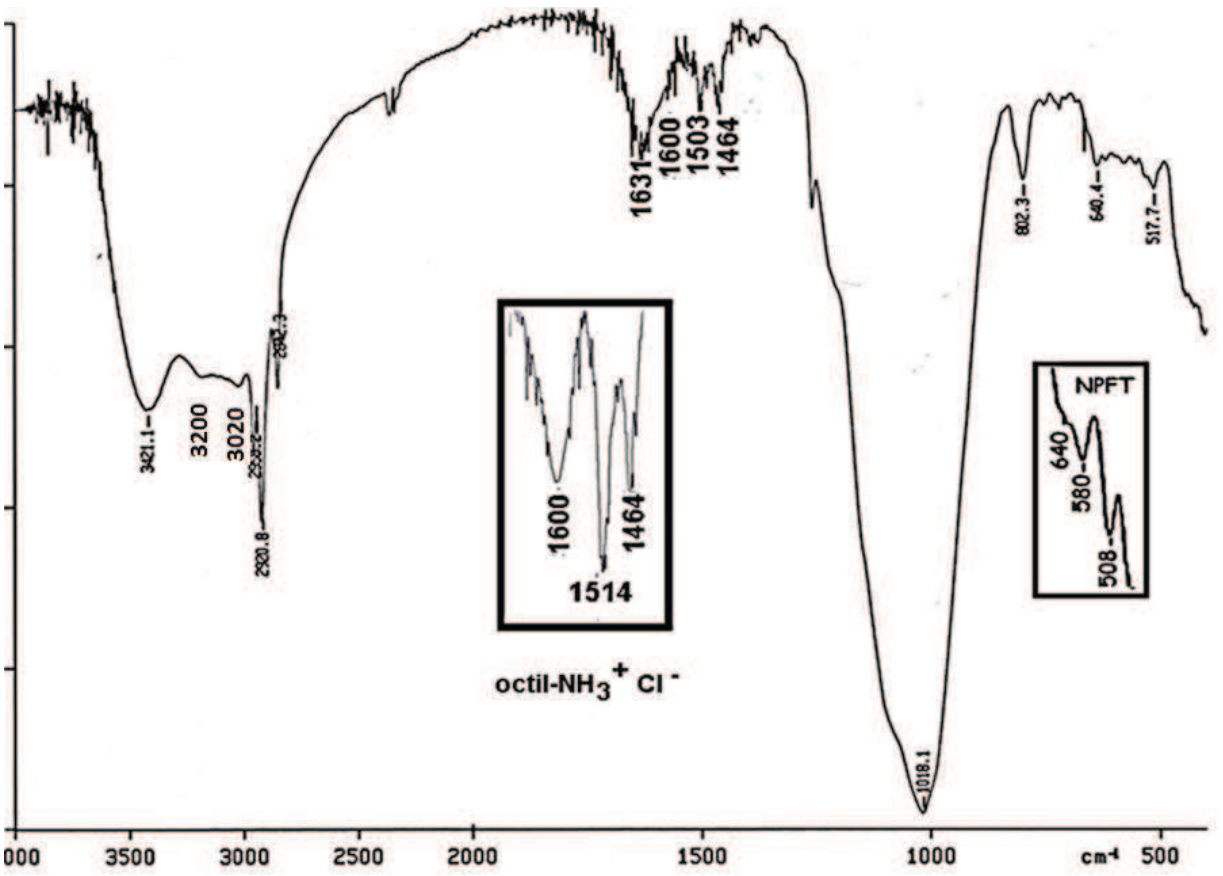


Figura 2.83. Espectro de infrarrojo de las nanopartículas **NPFT-OA-1**. En la imagen insertada de la izquierda se incluye un fragmento del espectro de infrarrojo del cloruro de octilamonio. En la imagen insertada de la derecha se recoge las bandas de las **NPFT** en la zona 500-700cm^{-1}.

Las señales a 1227 (hombro), 580 y a 508 cm^{-1} de las **NPFT** originales (véase imagen insertada a la derecha en la *Figura 2.83*) y que están relacionada con los fosfatos ácidos, han disminuido su intensidad en el espectro de las nanopartículas **NPFT-OA-1**. Este hecho también apoya la posible participación de los fosfatos ácidos de la **NPFT** en la formación del enlace con la amina y, por tanto, de la retención de la octilamina en la superficie de **NPFT-OA-1**.

Sin embargo es el espectro de **RMN** C-13 (s) de **NPFT-OA-1**, recogido en la *Figura 2.84-a*, la prueba más convincente de que se ha formado una sal de octilamonio, pues coincide en formato y en los desplazamientos químicos con el espectro de **RMN** de C-13 de cloruro de octilamonio en $CDCl_3$ (Bio-Rad Laboratories, obtenido a través del buscador Sci-finder). Por ello, se puede descartar definitivamente la formación de enlace covalente, $(-O)_2P(=O)-N<$. del esquema de la *Figura 2.82.*

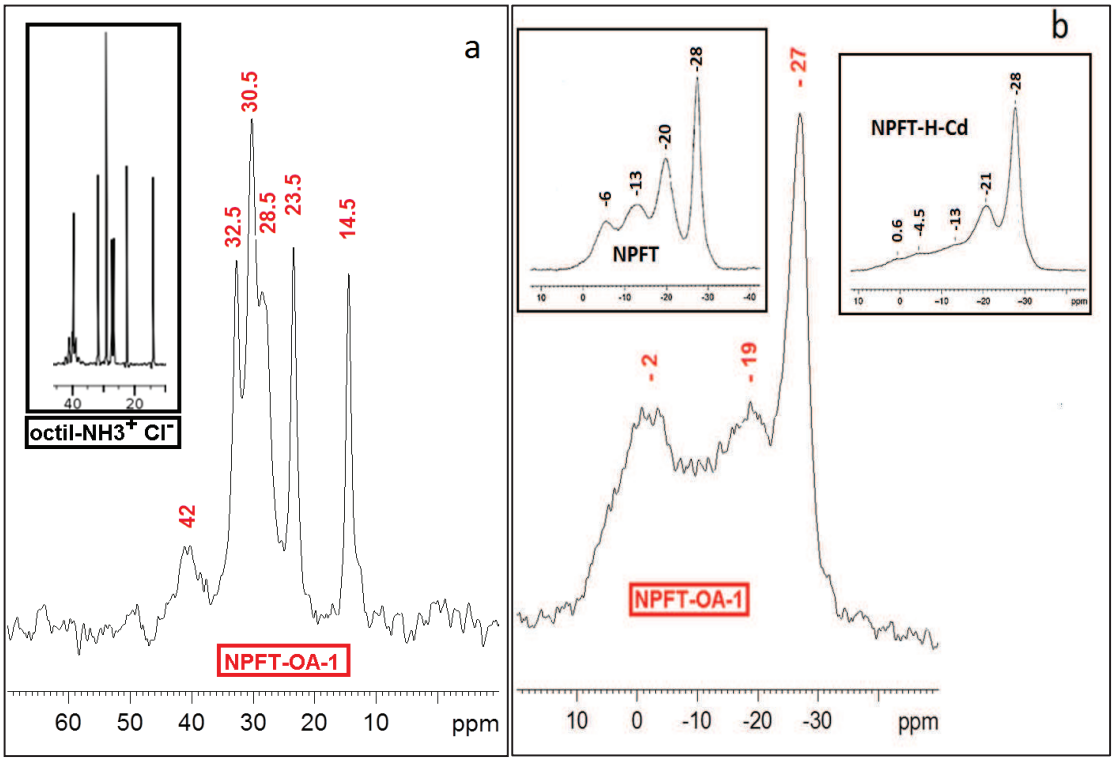


Figura 2.84. Espectro de **RMN** de C-13(s) de las nanopartículas **NPFT-OA-1** *(a).* En la imagen insertada de la izquierda se muestra el espectro de **RMN** C-13 del cloruro de octilamonio en $CDCl_3$ (142-95-0). (Datos obtenidos a través del buscador Scifinder). Espectro de **RMN** de P-13(s) de las nanopartículas **NPFT-OA-1** *(b).* La imagen insertada de la izquierda se recoge el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT**. La imagen insertada a la derecha contiene el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-H-Cd.**

De otro lado, comparando el espectro de **RMN** de P-31 de **NPFT-OA-1**, *Figura 2.84-b*, con el espectro de **RMN** de P-31 de **NPFT**, *imagen insertada a la izquierda en la Figura 2.84-b*, se puede detectar que la protonacion de la amina ha tenido lugar a través de los grupos $(HPO_4)^{2-}$ y $(H_2PO_4)^{1-}$ de **NPFT** pues sus señales a -6, -13 y -20 están claramente modificadas, sin embargo la participación de los dihidrógenofosfatos parece más fuerte que la del monohidrógenofosfato, a la vista de las deformaciones respectivas. La permanencia de la señal a -27 sugiere que la fase cristalina $NaTi_2(PO_4)_3$ permanece, al menos parcialmente, inalterada.

De la comparacion entre espectro de RMN de P-31(s) de **NPFT-H-Cd** y **NPFT-OA-1** parece deducirse que durante el proceso de inserción de la amina no hubo hidrólisis apreciable de las **NPFT**, (la hidrólisis supone una fuerte disminucion de intensidad en las señales a -6 y -13, vease *página 47*) quizás por el pH ácido (pH = 6) en que se llevó a cabo la reacción.

2.4.1. Incorporación de n-Octilamina.

A la vista de que la interacción entre la n-octilamina y las **NPFT**, a pesar del **EDC**/imidazol, es de carácter puramente iónico, tal como se discutió anteriormente, se decidió hacer reaccionar directamente las **NPFT** con n-octilamina. Así, se agitó durante dos días una suspensión de 50 mg de **NPFT** y 62 µL de n-octilamina (125 mM) en 3 mL de una mezcla de agua (1,5 mL) y etanol (1,5 mL), mezcla en la que n-octilamina es soluble (la concentración de la amina es 125 mM). A continuación las nanopartículas resultantes, **NPFT-OA-2**, se lavaron sucesivamente con una mezcla etanol/agua, 50/50 en volumen, (3x5 mL), etanol (3x5 mL) y éter etílico (3x5 mL). Finalmente se secaron a vacío a temperatura ambiente 12 h. Nótese que la proporción n-octilamina/**NPFT** es la misma que cuando se utilizó EDC e Imidazol (página 93), si bien en esta ocasión la concentración de octilamina es aproximadamente la mitad. Las nanopartículas **NPFT-OA-2** fueron caracterizadas por **MET**, **RMN** de P-31 (s), y difracción de rayos X de polvo.

La micrografía **MET** de **NPFT-OA-2** *(Figura 2.85)* indica que la amina recubre masivamente las nanopartículas impidiendo verlas con detalle.

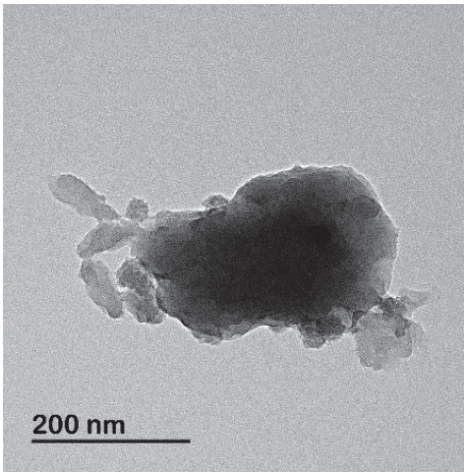


Figura 2.85. *Micrografía* ***MET*** *de las* ***NPFT-OA-2****.*

La mayor concentración de amina en **NPFT-OA-2** está reflejada también en su espectro de infrarrojo recogido en la *Figura 2.86*. Así, comparando este espectro con el de **NPFT-OA-1**, *Figura 2.83*, se observa que las señales debidas a los grupos CH_2 de la n-octilamina-2950, 2920, 2852 y 1464 cm^{-1} son mucho más intensos.

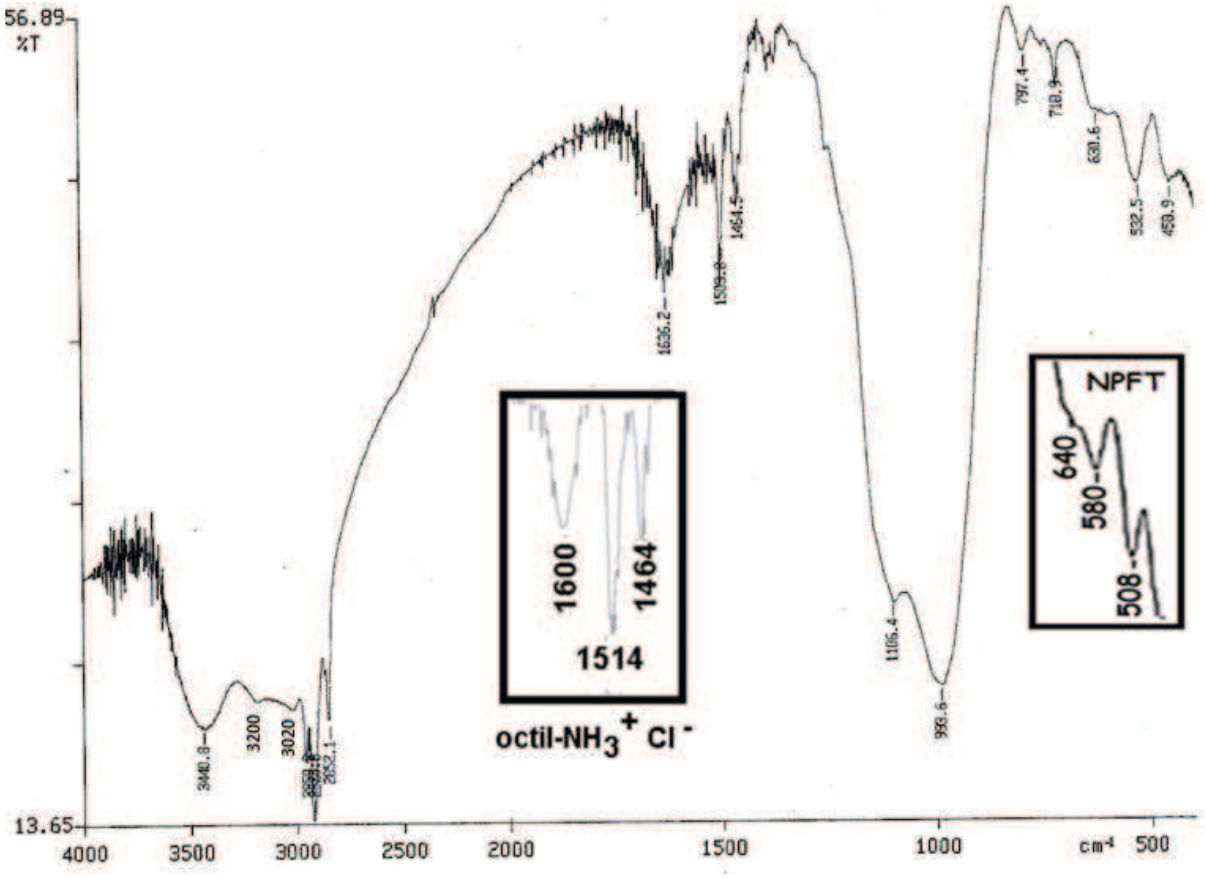


Figura 2.86. *Espectro* ***IR*** *de las nanopartículas* ***NPFT-OA-2****. En la imagen insertada de la izquierda se muestran algunas bandas características del ión octilamonio y la imagen insertada in la parte derecha contiene un fragmento del espectro de infrarrojo de* ***NPFT*** *en la zona 500-700* cm^{-1}.

Por otra parte las señales debidas al ion amonio (del octilamonio) a 3200, 3020 y 1504 cm^{-1} es plenamente visible, y las señales debidas a 1227, 580 y 508 cm^{-1} han disminuido drásticamente de intensidad, lo que avala la formación de pares iónicos fosfato/octilamonio que retienen la amina unida a las nanopartículas. Sorprende que la señal de los fosfatos este divida en dos bandas a 1106 y 994 cm^{-1}, lo que sugiere una fuerte reorganización de las **NPFT**.

Por su parte el espectro de **RMN** de P-31 (s) de **NPFT-OA-2**, *Figura 2.87*, está fuertemente distorsionado en comparación con el espectro de **RMN** de P-31 (s) de

NPFT-OA-1, imagen insertada a la derecha en la *Figura 2.87*, lo que claramente indica la fuerte interacción de la amina con todos los fosfatos ácidos de la **NPFT** cuyo espectro de **RMN** de P-31 (s) puede verse en la imagen insertada a la izquierda en la *Figura 2.87*. Las señales intensas en la zona de -6 a -13 ppm son debidas a que en esta ocasión tampoco la hidrólisis compite con la interacción de la amina. De otro lado, la señal a -27 ppm parece bastante disminuida, lo que hace pensar que quizás la fase cristalina $NaTi_2(PO_4)_3$ esté bastante deteriorada, cosa que puede comprobarse al comparar el difractograma de **NPFT-OA-2** con el difractograma de **NPFT** (*véase Figura 2.88*).

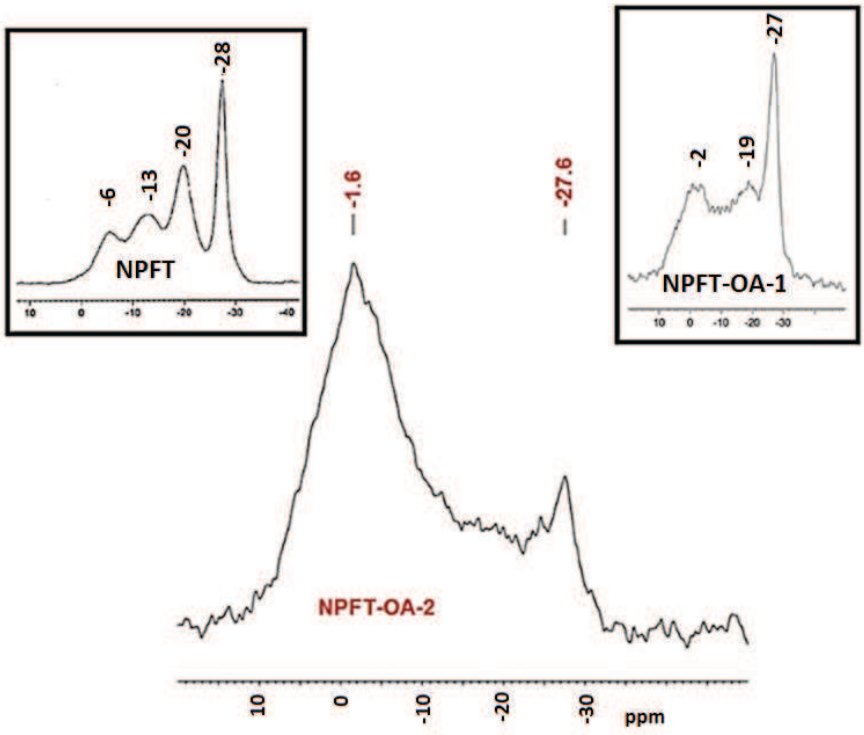


Figura 2.87. *Espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-2**. En la imagen insertada a la izquierda se recoge el espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT**. En la imagen insertada a la drcha. se recoge el espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-1**.*

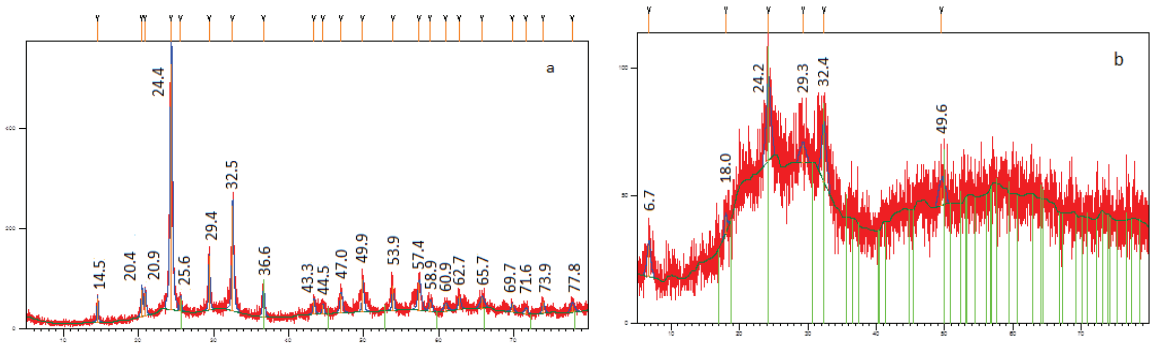


Figura 2.88. *Difractogramas* ***NPFT*** *(a) y* ***NPFT-AO-2*** *(b).*

Para corroborar que la n-octilamina está unida a las nanopartículas mediante pares iónicos fosfato/octilamonio se hizo reaccionar las **NPFT-OA-2** con un fuerte exceso de cloruro amónico en condiciones suaves. En concreto, se agitó a temperatura ambiente 80 mg de **NPFT-OA-2** con 1,5 g de NH_4Cl (2,8 M) en una mezcla de 5 mL de agua y 5 mL de etanol durante dos días, dando lugar a las nanopartículas **NPFT-OA-2-A**. A continuación se decantaron las nanopartículas, se lavaron con agua/etanol, etanol y éter y se secaron a vacío.

Pues bien, en el espectro de infrarrojo de **NPFT-AO-2-A** han desaparecido las bandas características debidas al ión octilamonio a 3200, 3020 ($\nu_{(N-H)}$); a 2950, 2920, 2852 ($\nu_{(C-H)}$); a 1504 ($\delta_{(N-H2)}$) y a 14640 cm^{-1} ($\delta_{(C-H2)}$), mientras que han aparecido las señales propias de ión NH_4^+, siendo especialmente clara la banda a 1401 cm^{-1} (la señal a 3142 cm^{-1} del cloruro amónico podría haber cambiado a 3186 cm^{-1} al existir otro u otros contra-aniones). Por otra parte, dado el pK_a del ion NH_4^+ es 9,24, más alto que el pK_{a3} del ácido fosfórico, 12,34 cabría esperar que algunos fosfatos se convirtieran en hidrógenofosfatos, lo que se refleja en la aparición de una débil señal a 517 cm^{-1}.[67] Todo ello parece avalar que, efectivamente, la n-octilamina reacciona directamente con las nanopartículas formando pares fosfato/octilamonio.

Incidentalmente, la señal de los fosfatos (P=O) vuelve a ser una banda, a 1018 cm^{-1}.

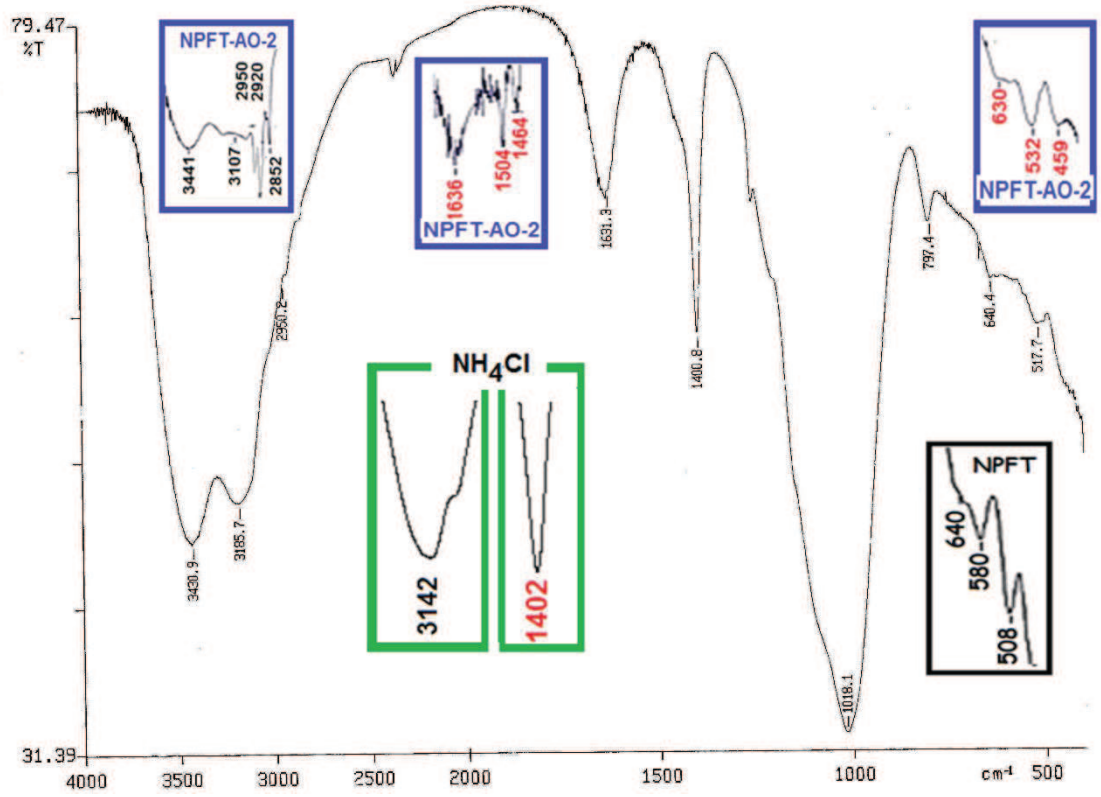


Figura 2.89. *Espectro de* ***IR*** *de* ***NPFT-OA-2-A****. Las imágenes insertadas en la parte superior corresponden a distintos fragmentos del infrarrojo de* ***NPFT-AO-2*** *(Figura 2.86). La imagen injertada en la parte inferior izquierda muestra algunas bandas características del cloruro amónico. La imagen inferior derecha muestra la zona 500-700 cm^{-1} de* ***NPFT****.*

2.4.2. Incorporación de Albúmina de Suero Bovino (ASB).

Una vez comprobado que la n-octilamina se une directamente a las **NPFT** mediante la formación de enlaces iónicos fosfato/amonio y se libera por acción del NH_4Cl, surgió la posibilidad de probar si esta misma metodología podría servir para unir y liberar una proteína sencilla como la albúmina se suero bovino (**ASB**) a las **NPFT**.

Para ello, se agitaron a temperatura ambiente 50 mg de **NPFT** con 15 mg de albumina de suero bovino ($2{,}2\ 10^{-4}$ mmoles) en 3 mL de agua dando lugar a las nanopartículas **NPFT-ASB-2** que tras ser lavadas con agua y éter, fueron secadas a vacío.

Las micrografías **MET** de **NPFT-ASB-2**. muestran que la albúmina también forma una película por encima de las nanopartículas, como la n-octilamina, aunque, en este caso, al ser la concentración del compuesto aminado mucho menor, la película es menos intensa, por lo que se pueden observar las nanopartículas con mayor facilidad, siendo estas quasi-esféricas y con un diámetro medio de aproximadamente 30 nm.

La difracción de electrones, asociada al **MET**, sugiere que el núcleo cristalino, $NaTi_2(PO_4)_3$ se mantiene en parte, (*Figura 2.91*). En efecto, la distancia interplanar a 3,62 Å corresponde a un ángulo 2θ= 24,6 en la difracción de rayos X, muy parecido al valor de 2θ al que aparece la señal del trifosfato de dititanio y sodio más intensa, 24,4. En cambio la otra distancia interplanar 2,99 Å tiene un valor de 2θ asociado de 10,4 en la difracción de rayos X, al que no aparece ninguna señal de $NaTi_2(PO_4)_3$. De hecho es tan bajo que pudiera pertenecer a una mesofase. En todo caso sugiere alguna distorsión de la fase cristalina.

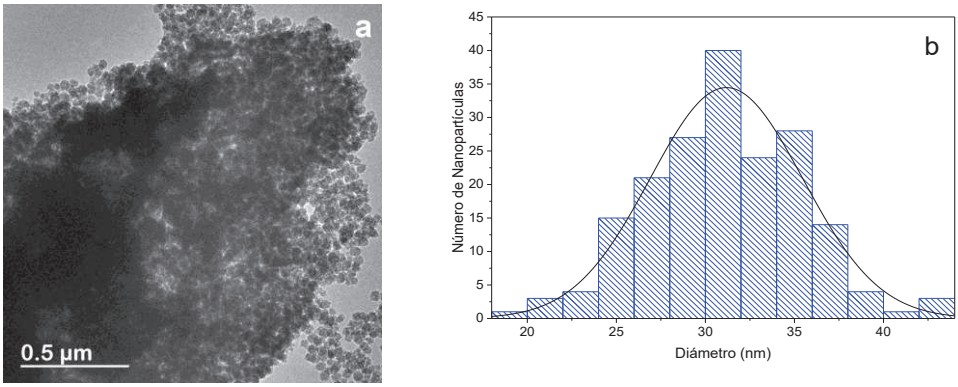


Figura 2.90. *Micrografía* ***MET*** *y distribución de tamaño de* ***NPFT-ASB-2****.*

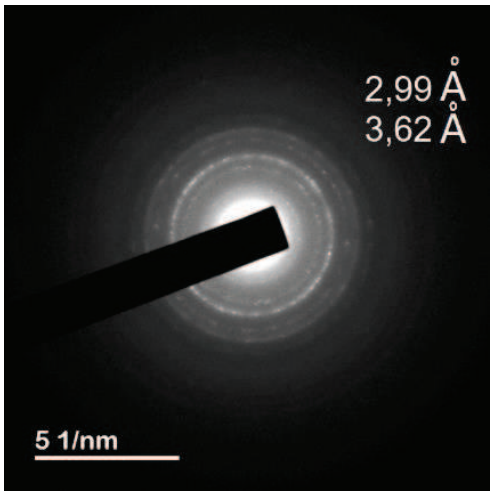


Figura 2.91. *Difracción de electrones de* ***NPFT-ASB-2****.*

El espectro de infrarrojo de **NPFT-ASB-2** recogido en la *Figura 2.92*, es uno particularmente concentrado para que se vean bien las bandas que provienen de la albúmina (2960, 1656, 1538, 1450 cm^{-1}). Ello implica que la **ASB** se ha unido a las nanopartículas, pues la albumina es muy soluble en agua y la que estuviera libre debiera haberse eliminado durante los lavados. Por otro lado, la anchura de la señal a 1538 cm^{-1} que puede esconder una banda a 1510 cm^{-1} debido a iones amonio y la disminución de las señales a 580 y 508 cm^{-1} apuntan a que la **ASB** también está unida a la nanopartícula por pares iónicos fosfato/amonio.

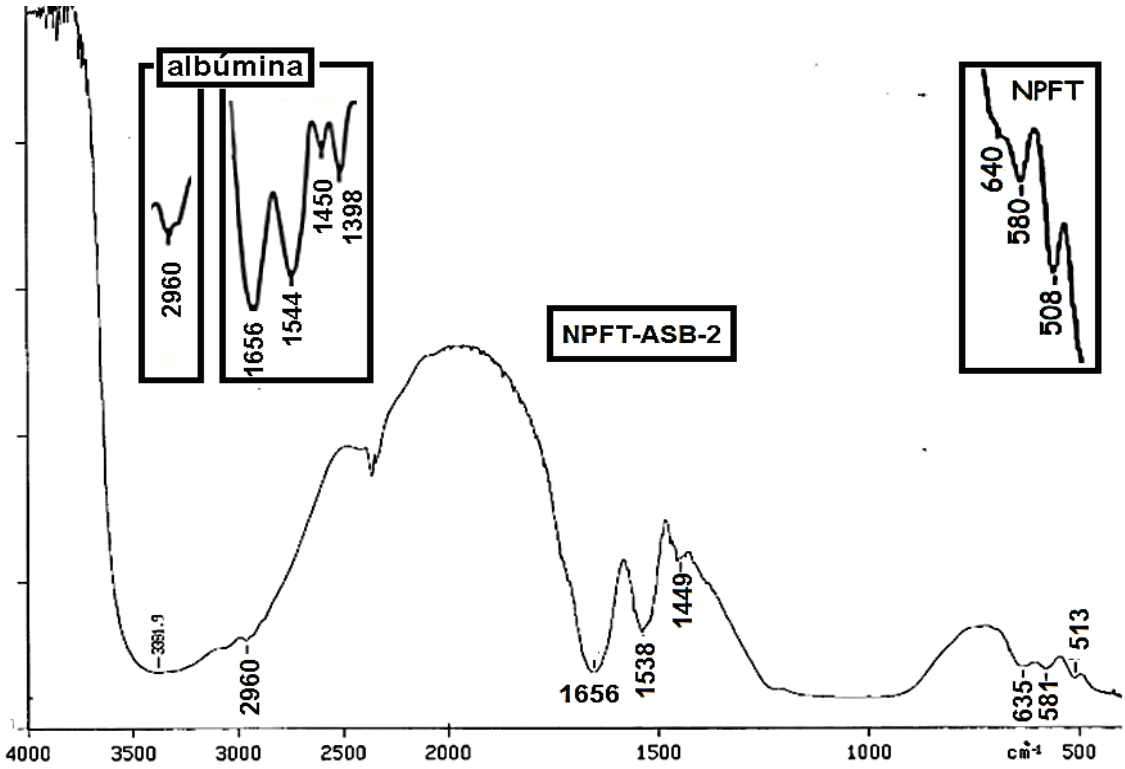


Figura 2.92. *Espectro de **IR** de **NPFT-ASB-2**. La imagen insertada a la derecha muestra algunas bandas propias de la **ASB**. La imagen insertada a la izquierda recoge un fragmento del espectro de infrarrojo de **NPFT**.*

A continuación se hizo reaccionar **NPFT-ASB-2** con cloruro amónico. En concreto, se agitó a temperatura ambiente durante dos días 80 mg de **NPFT-ASB-2** con 1,5 g de NH_4Cl (2,8 M) en 3 mL de agua, obteniéndose **NPFT-ASB-2-A**, que se decantó, se lavó sucesivamente con 3x5 mL de agua y con 3x5 mL de éter y se secó a vacío. El infrarrojo de **NPFT-ASB-2-A**, recogido en la *Figura 2.93,* muestra que si ha habido intercambio de la albúmina por el catión amonio (aparición de señal a 1401 cm^{-1} característica del ion NH_4^+, desplazamiento de la señal a 1656 cm^{-1} de la **ASB** a 1641 cm^{-1} debida al agua), aunque, el desplazamiento de la albúmina no es total puesto que se sigue observando la señal hacia 1533 cm^{-1} que corresponde sin duda a la **ASB**. La dificultad para desplazar totalmente a la albumina puede estar relacionada bien con el gran tamaño de la **ASB** (66,5 kDa) o bien con que se hayan formado muchos enlaces de hidrógeno. De otro lado, y dada la acidez del grupo amonio, también en esta ocasión se aprecia el aumento de intensidad de las bandas a 580 y 517 cm^{-1} debidas, en parte, a los hidrógenofosfatos que se han debido formar por acción del ion NH_4^+ sobre los fosfatos.

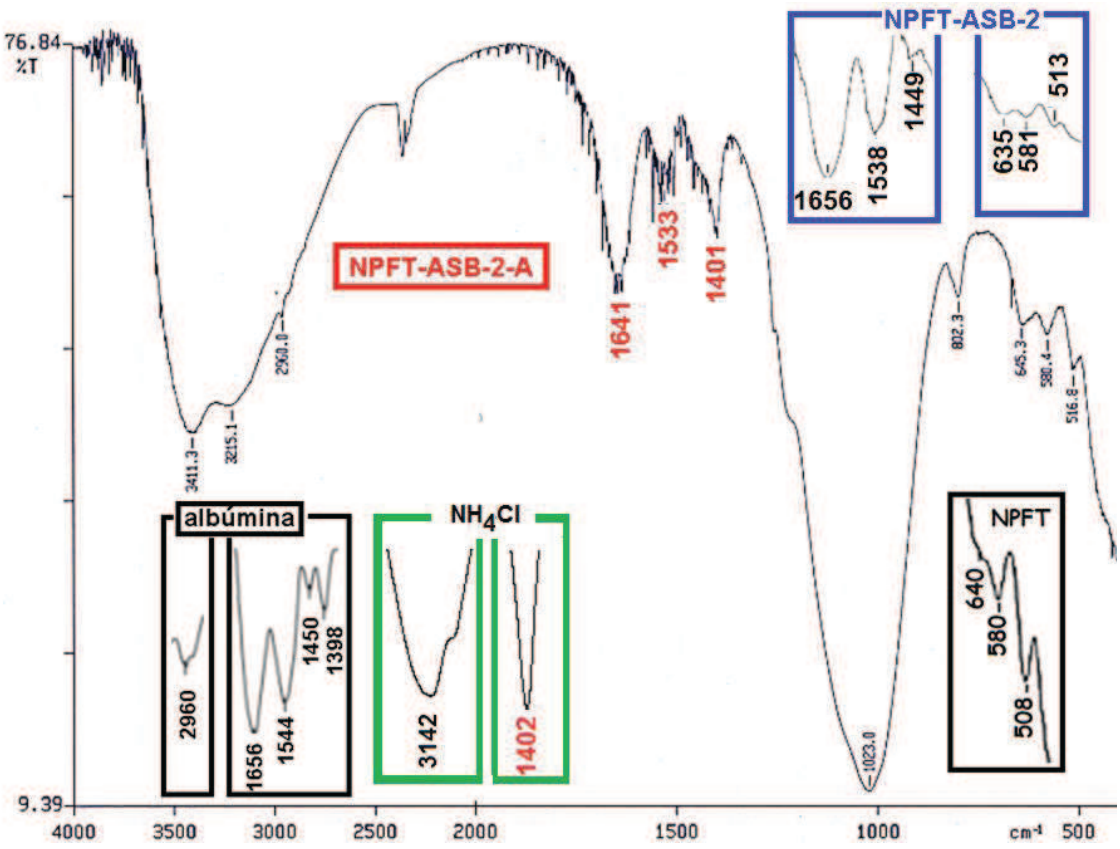


Figura 2.93. *Espectro de **IR** de **NPFT-ASB-2-A**. Imágenes insertadas arriba a la derecha corresponden a fragmentos del espectro de **FTIR** de **NPFT-ASB-2**. La imagen insertada abajo a la derecha muestra algunas bandas de la albúmina. La imagen insertada abajo en el centro recoge las bandas más características del cloruro amónico. La imagen insertada abajo a la derecha recoge una sección del espectro de **IR** de **NPFT**.*

En definitiva, el método simple unión directa/liberación con cloruro amónico sólo ha tenido un éxito parcial con la **ASB**. La proteína sí se incorpora a las **NPFT** por reacción directa pero no se libera totalmente por tratamiento con NH4Cl. La dificultad para desplazar totalmente a la albúmina (en las condiciones probadas) puede estar relacionada bien con el gran tamaño de la ASB (66,5 kDa) o bien con que se hayan formado muchos enlaces de hidrógeno.

2.5. Incorporación de compuestos aminados a NPFT modificadas previamente con metal.

Llegados a este punto pareció importante saber si el recubrimiento de las nanopartículas con n-octilamina se vería afectado por la presencia de iones metálicos previamente incorporados a las **NPFT**. Lo que cabe esperar es que a medida que las nanopartículas de Fosfato de Titanio se vayan cargando de iones metálicos vayan quedando menos protones intercambiables y, por tanto menos protones para obtener iones octilamonio. Y eso es exactamente lo que ocurre como se puede observar en la *Figura 2.94*. En ella se recogen fragmentos de los infrarrojos en la zona 2800-4000 cm-1, de **NPFT-OA-2** y de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA**, **NPFT-Cd-2-OA** y **NPFT-Cd-3-OA** que resultan de tratar **NPFT-Cd-1**, **NPFT-Cd-2** y **NPFT-Cd-3** (50 mg de cada una) con 3 mL de una disolución (50/50 en volumen, agua/etanol) de n-octilamina con una concentración 121 mM (60 µL). La intensidad relativa de las bandas a 2950, 2920 y 2852 cm^{-1} debidas exclusivamente a los grupos CH_2 de la n-octilamina disminuye a medida que se van cargando de Cadmio las nanopartículas de Fosfato de Titanio.

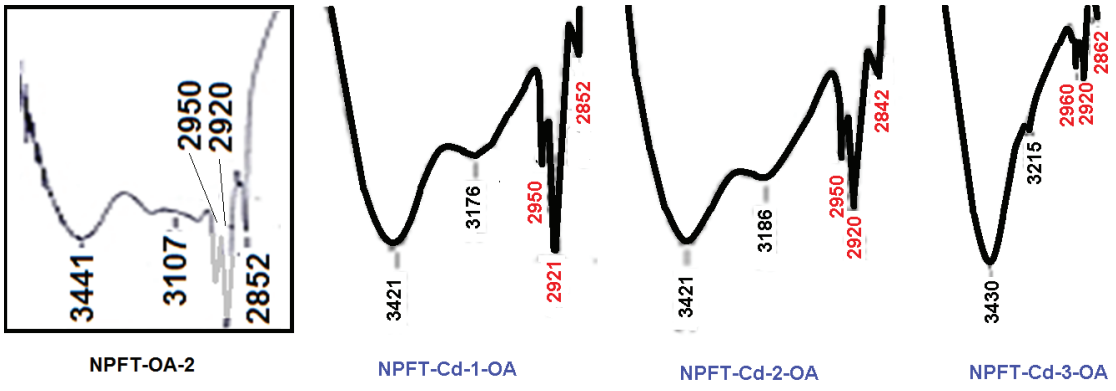


Figura 2.94. *Fragmento de los espectros* ***IR*** *(en la zona 2800-4000 cm-1) de* ***NPFT-OA-2***, ***NPFT-Cd-1-OA***, ***NPFT-Cd-2-OA*** *y* ***NPFT-Cd-3-OA***.

Con más detalle se han estudiado las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA**.

Su espectro de infrarrojo muestra bandas propias de los grupos CH_2/CH_3 del ion amonio como son las señales a 2950, 2924, 2852 y 1469 cm^{-1}. La banda a 1540 cm^{-1} es probablemente debida al grupo amonio (RNH_3^+) aunque sale a un número de ondas un poco alto. También salen un poco desviadas las bandas de tensión N-H con un máximo a 3175 cm^{-1}. En cualquier caso, se observa el esperado descenso en la intensidad de las bandas a 576 y 513 cm^{-1} debidas a los fosfatos ácido.

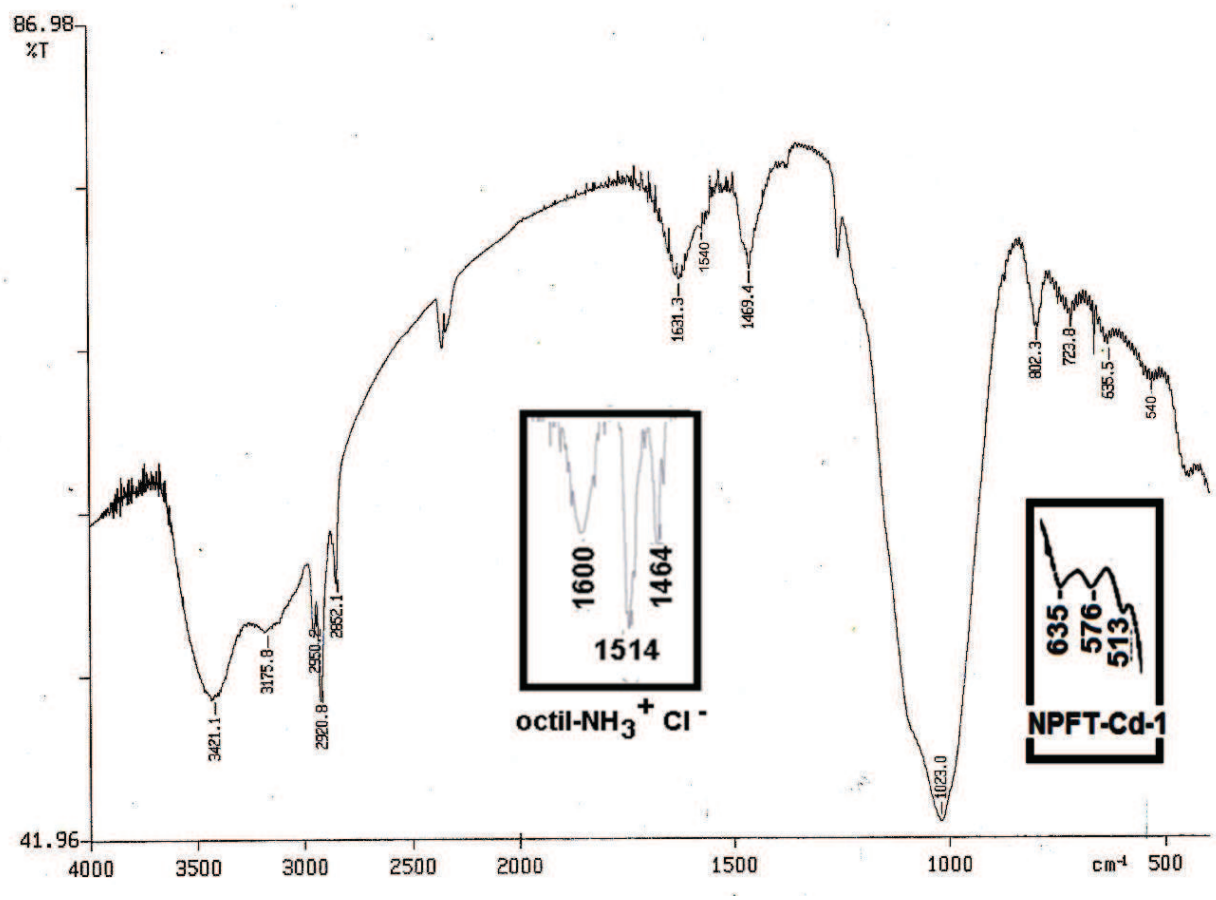


Figura 2.95. *Espectro **IR** de **NPFT-Cd-1-OA**. En la imagen insertada abajo a la izquierda incluye algunas señales características del cloruro de octilamonio. En la imagen insertada abajo a la derecha incluye un fragmento de **NPFT-Cd-1**, el que corresponde la zona 500-700 cm^{-1}.*

Sin embargo es el espectro de **RMN** de C-13 (s) el que despeja cualquier duda sobre la forma de unirse la amina a las nanopartículas, pues las señales que aparecen corresponden al ión octilamonio, dada la coincidencia manifiesta con los picos que tiene el espectro de **RMN** de C-13 del cloruro de octilamonio en $CDCl_3$ que aparece en la imagen insertada en la *Figura 2.96* (Bio-Rad Laboratories, obtenido a través del buscador Sci-finder). Es decir, que la amina se une a la nanopartícula por formación de pares iónicos fosfato/octilamonio después de protonarse con los hidrógenos de los fosfatos ácidos que quedan como aniones fosfato.

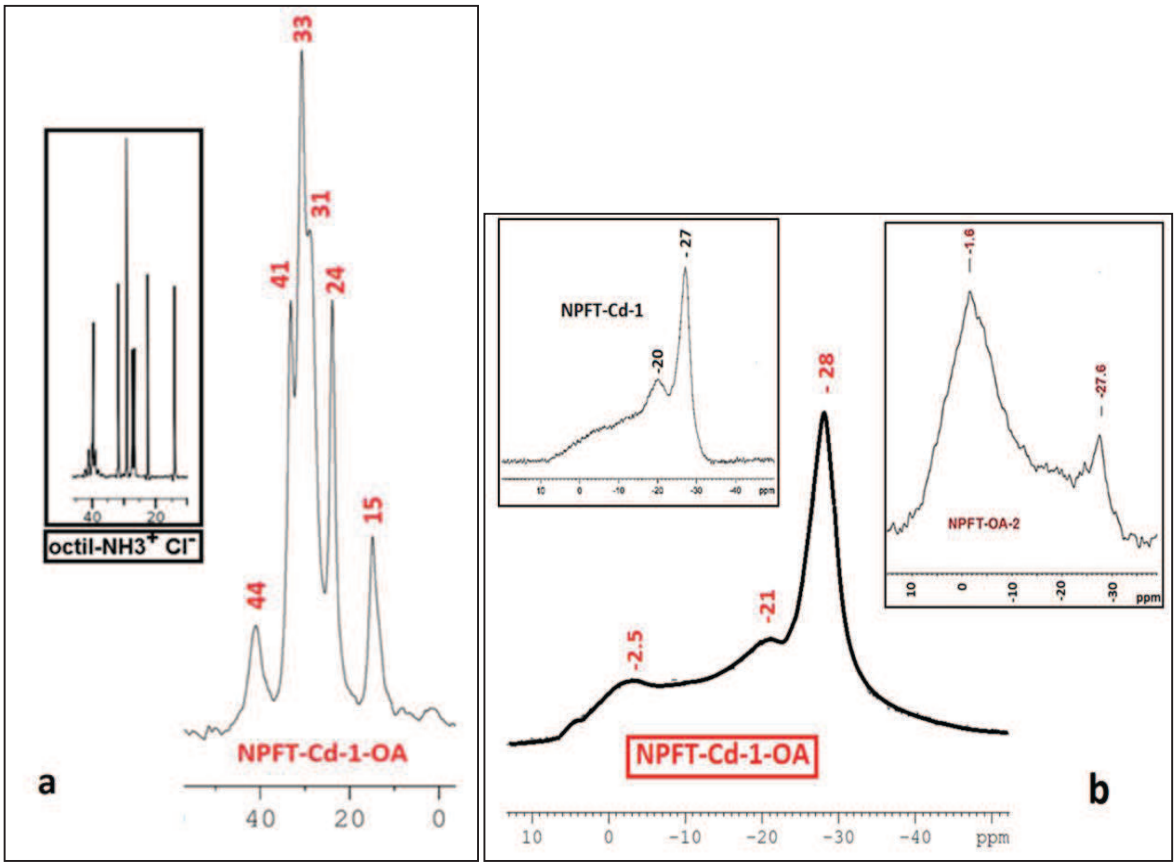


Figura 2.96. *Espectro de **RMN** de C-13(s) de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA** (a). En la imagen insertada a la izquierda se muestra el espectro de **RMN** C-13 del cloruro de octilamonio en $CDCl_3$ (142-95-0). (Datos obtenidos a través del buscador Scifinder). Espectro de **RMN** de P-13(s) de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA** (b). La imagen insertada a la izquierda se recoge el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1**. La imagen insertada a la derecha contiene el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-2**.*

Por su parte, el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1-OA**, *Figura 2.96*, mantiene el formato básico del espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1** (imagen insertada a la izquierda en la *Figura 2.96*) pero con un pico a -2.5 ppm que debe ser característico de los pares iónicos fosfatos/octilamonio, por cuanto recuerda el intenso pico a -1,5 ppm del espectro **RMN** de P-31(s) de **NPFT-OA-2** (imagen insertada a la derecha en la *Figura 2.96*)

En las micrografías de **MET** de **NPFT-Cd-1-OA**, *Figura 2.97*, se observa que los cationes octilamonio forman una capa poco densa por encima de las nanopartículas que hace que estas se encuentren algo aglomeradas, pero se pueden distinguir razonablemente bien, siendo su diámetro entorno a los 30 nm dentro del margen de error experimental.

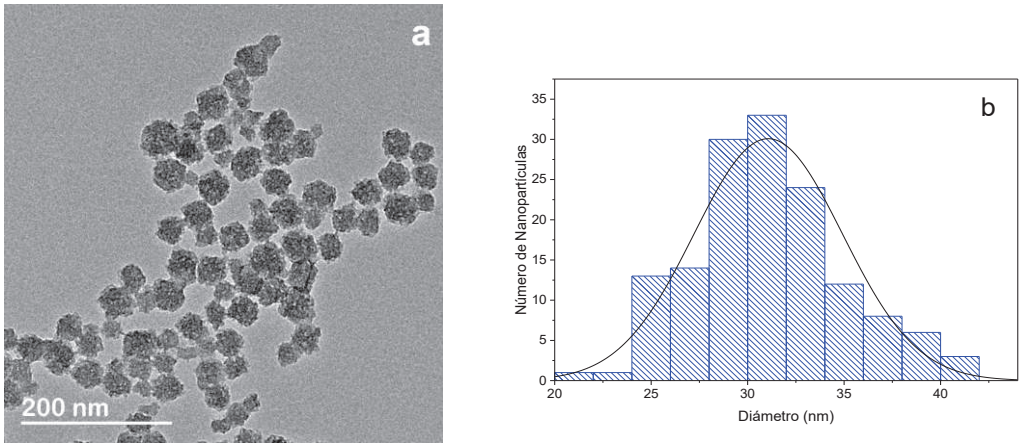


Figura 2.97. *a) Micrografía **MET** de **NPFT-Cd-1-OA** y b) su distribución de tamaño.*

Por su parte, los datos **EDE** (**MET**) indican que la relación cadmio/titanio no varía al pasar de **NPFT-Cd-1** a **NPFT-Cd-1-OA** siendo en ambos casos próximo a 0,1.

Finalmente, el recubrimiento de **NPFT-Cd-1** con n-octilamina solo parece alterar de forma moderada la cristalinidad de la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ ya bastante deteriorada **NPFT-Cd-1** (Véase *Figura 2.98*).

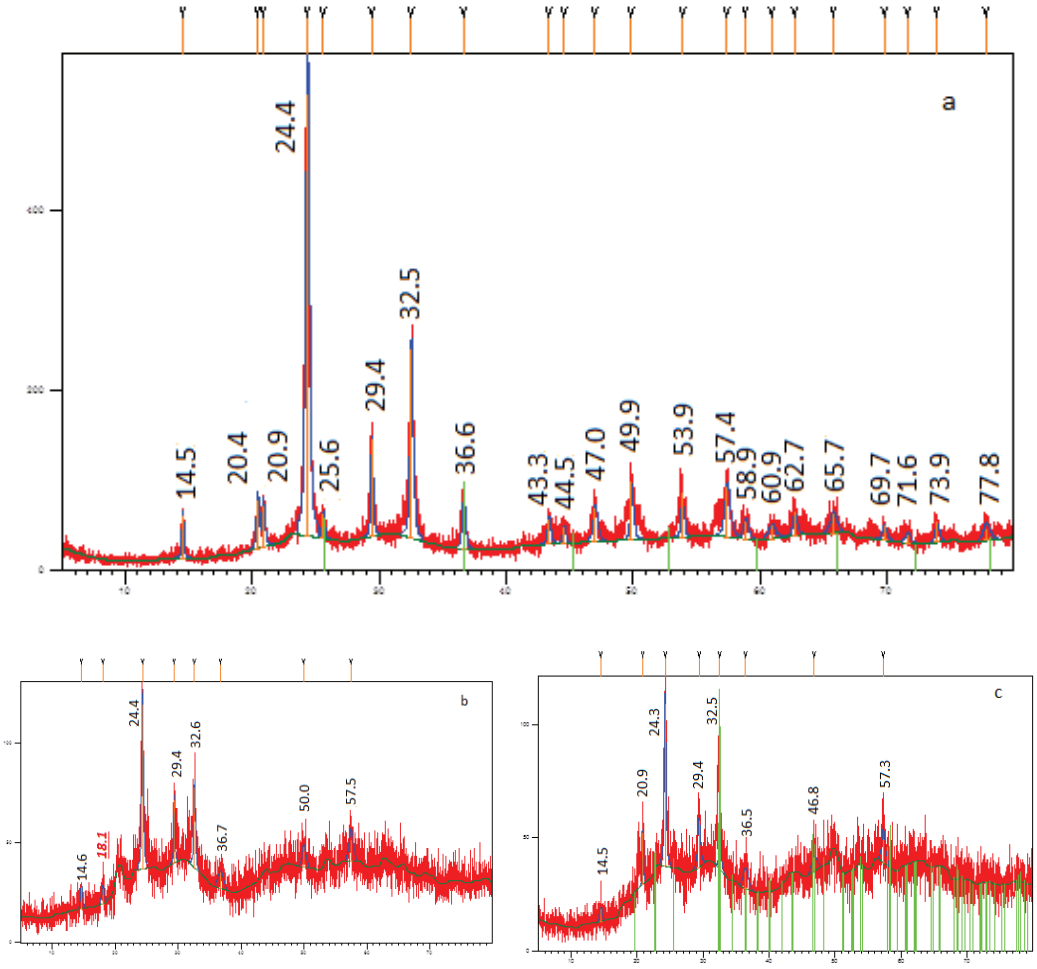


Figura 2.98. *Difractograma de rayos X de* ***NPFT*** *(a),* ***NPFT-Cd-1 (****b),* ***NPFT-Cd-1- OA*** *(c).*

La difracción de electrones (*Figura 2.99)* muestra dos distancias interplanares a 3,67 y 4,38 Å, asociadas a los valores de 2θ = 24,3 y 29,9 en la difracción de rayos X respectivamente, valores próximos a los que aparecen en las señales de $NaTi_2(PO_4)_3$.

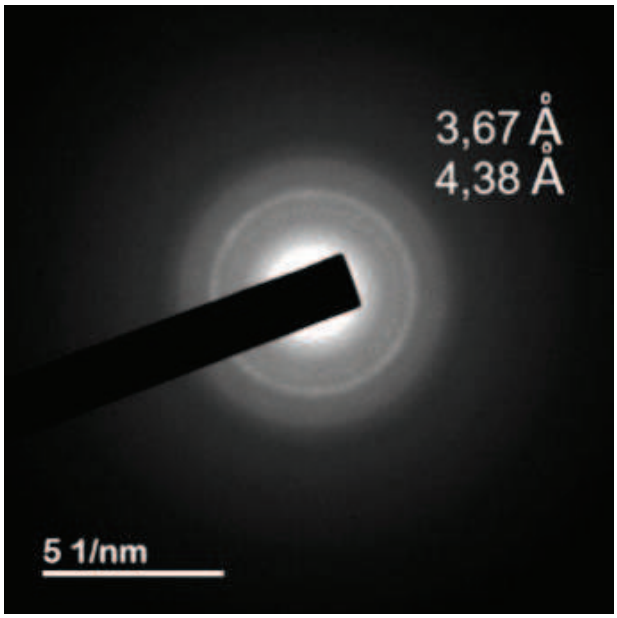


Figura 2.99. *Difracción de electrones de* ***NPFT-Cd-1-OA****.*

2.6. Tratamiento de NPFT cargadas con M^{+2} y amina con un medio ácido

Una vez preparadas las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA** parece conveniente estudiar si en esas condiciones es fácil liberar el metal en medio ácido, pues eso es justamente el paso final que se lleva a cabo en su aplicación analítica (véase introducción).

Pues bien, se agitaron durante 60 s a temperatura ambiente 80 mg de **NPFT-Cd-1-OA** en 5 mL de una disolución 0,1 M de HCl. Tras decantar, lavar con 3x5 mL de agua mQ, 3x5 ml EtOH y 3x5 ml de Et_2O, se seca a vacío, obteniéndose las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA-HCl**.

Las micrografías **MET** de **NPFT-Cd-1-OA-HCl**, *Figura 2.100,* muestran que las nanopartículas no se destruyen en el tratamiento ácido. Además no modifican su morfología inicial ni su diámetro medio. De otro lado, la relación Cd/Ti ha bajado de 0,1 en **NPFT-Cd-1-OA** a 0,03 en **NPFT-Cd-1-OA-HCl** en el límite de detección, con lo que se confirma que el cadmio se ha liberado por acción del ácido clorhídrico**.**

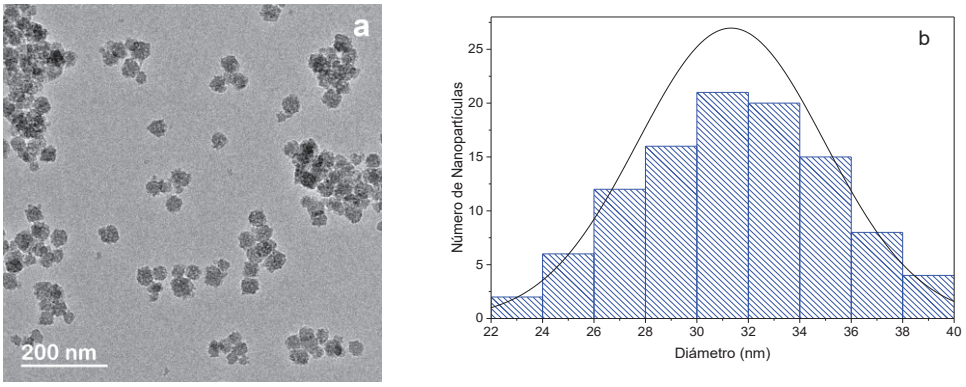


Figura 2.100. *Micrografía* ***MET*** *de* ***NPFT-Cd-1-AO-HCl*** *(a) y su distribución de tamaño (b).*

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1-OA	58,36 ± 1,39	3,45 ± 0,43	20,67 ± 0,94	15,85 ± 0,74	1,66 ± 0,20
NPFT-Cd-1-OA-HCl	59,97 ± 2,36	2,73 ± 0,32	22,75 ± 1,39	14,13 ± 1,03	0,42 ± 0,20

Tabla 2.16. *Composición (**EDE**) de **NPFT-Cd-1-OA** y **NPFT-Cd-1-OA-HCl**.*

El infrarrojo del **NPFT-Cd-1-AO-HCl**, *Figura 2.101*, confirma la liberación no sólo de la mayor parte de los cationes cadmio (II), sino también de la mayoría de los cationes octilamonio, pues se recuperan las señales atribuidas a los fosfatos ácidos a 577 y 513 cm^{-1} y se reduce drásticamente la intensidad de las señales atribuidas a los grupos CH_2/CH_3 a 2960, 2920, 2862 y 1454 cm^{-1}.

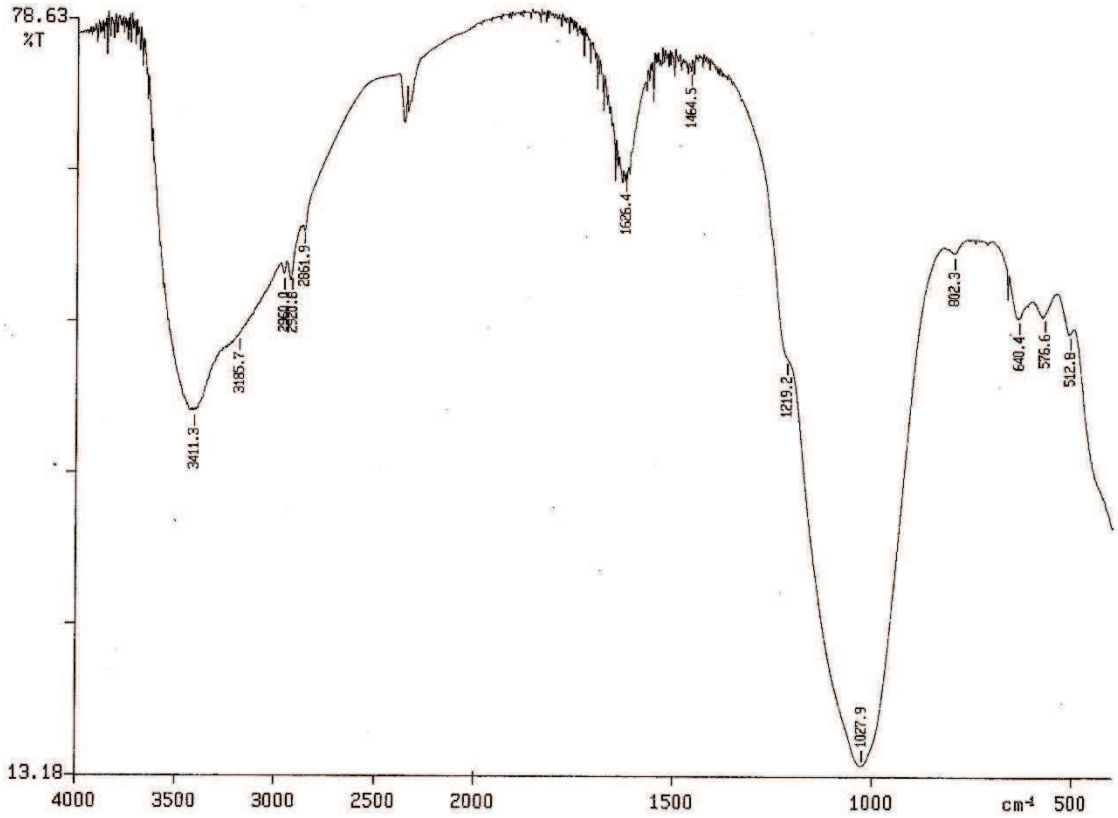


Figura 2.101. *Espectro* ***IR*** *de* ***NPFT-Cd-1-OA-HCl****.*

Finalmente la fase $NaTi_2(PO_4)_3$ recupera parte de su cristalinidad, aunque no obtiene la cristalinidad inicial, como se ve en los difractogramas de rayos X de la *Figura 2.102.*

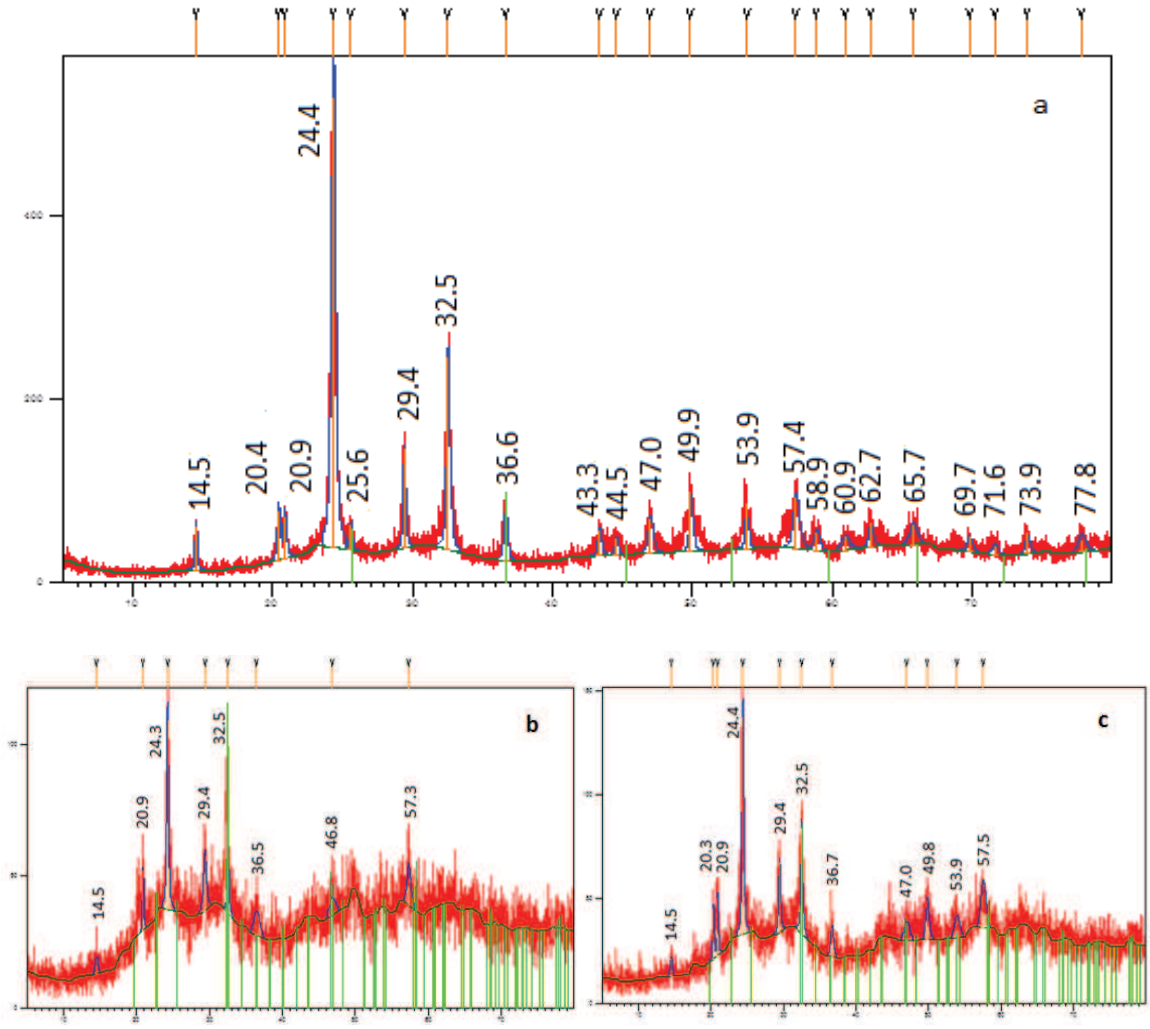


Figura 2.102. *Difractograma de rayos X de* ***NPFT*** *(a),* ***NPFT-Cd-1-OA*** *(b) y* ***NPFT-Cd-1-OA-HCl*** *(c).*

Las medidas de difracción de electrones no son de gran ayuda en este caso, pues las distancias interplanares y sus correspondientes valores asociados de *2*θ en la difracción de rayos X no son muy diferentes; 3,67 Å (*2*θ =24,3) y 4,38 Å (*2*θ =29,9) para **NPFT-Cd-1-OA** y 3,62 Å (*2*θ =24,6) y 4,28 Å (*2*θ =20,8) para **NPFT-Cd-1-OA-HCl**.

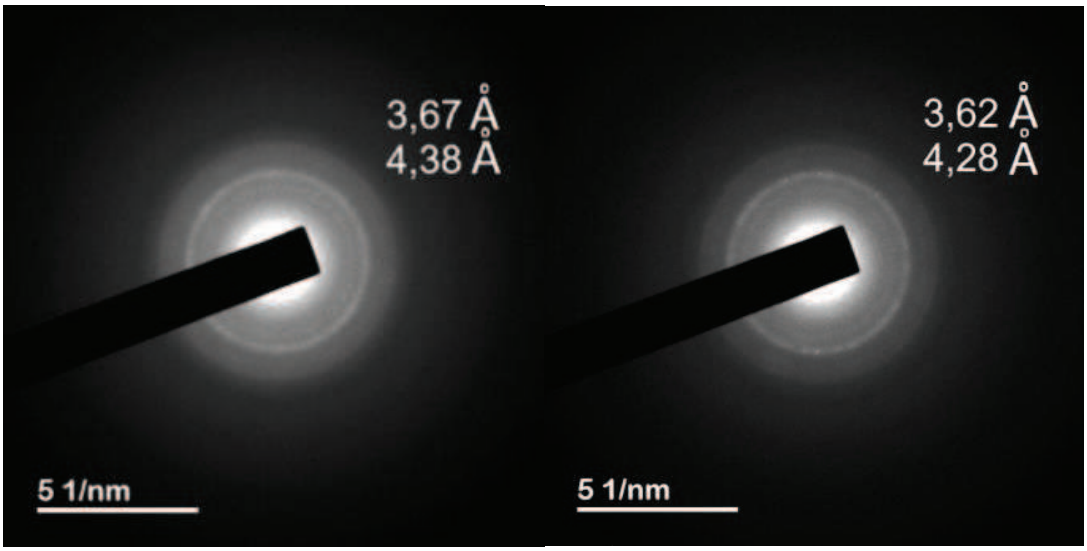


Figura 2.103. *Difracción de electrones de* ***NPFT-Cd-1-OA*** *(a) y* ***NPFT-Cd-1-OA-HCl*** *(b).*

Por su parte, el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1-OA-HCl**, *Figura 2.104,* mantiene el formato de **NPFT-Cd-1-OA-HCl**, observándose la señal a -28 ppm correspondiente de los grupos $((PO_4)^{3-})$ y una ligera recuperación de las señales a -21 y -3 ppm correspondientes a los fosfatos ácidos.

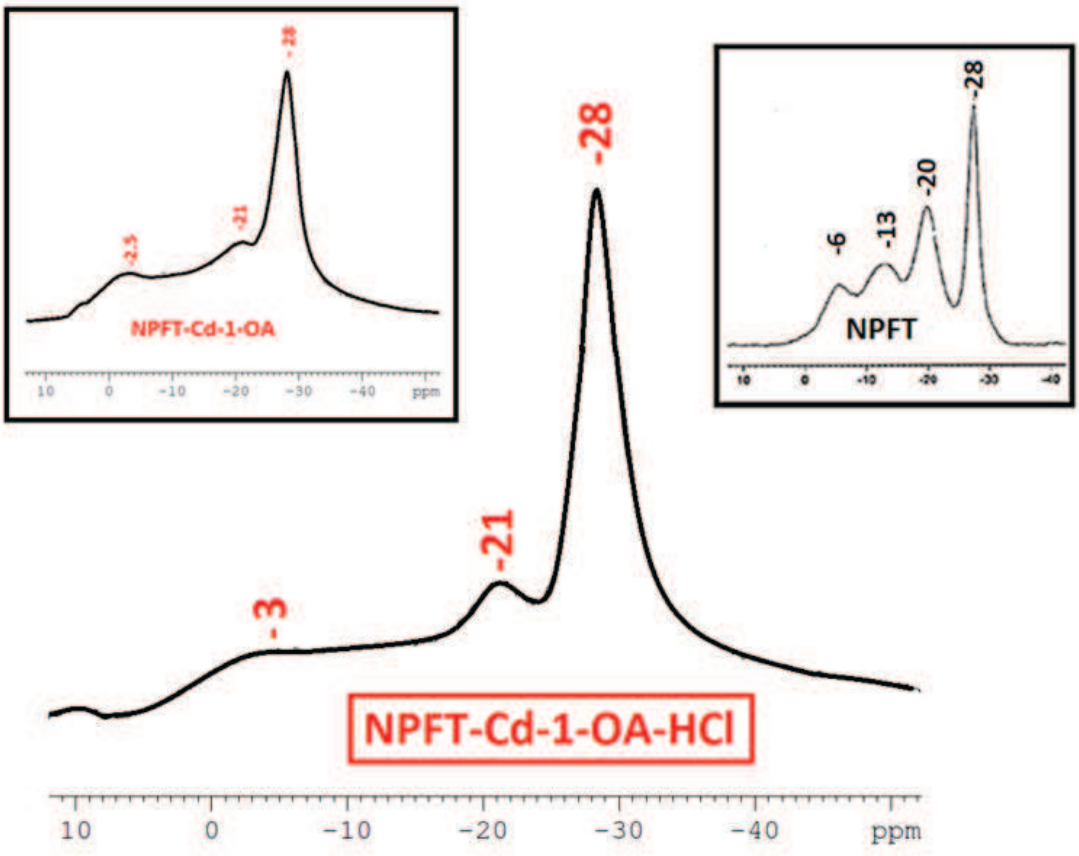


Figura 2.104. Espectro de **RMN** de P-13(s) de las nanopartículas **NPFT-Cd-1-OA-HCl**. En la imagen insertada a la izquierda se recoge el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT-Cd-1-OA**. La imagen insertada a la derecha contiene el espectro de **RMN** de P-31(s) de **NPFT**.

3. Parte Experimental

3.1.- Técnicas empleadas en la caracterización de compuestos.

3.1.1.- Espectroscopía de Infrarrojo (IR).

Los espectros de **IR** han sido registrados en un espectrómetro "*Perkin-Elmer Paragon 1000 FTIR*", en el rango de 4000 a 400 cm^{-1}. Las muestras se han preparado en dispersión de bromuro potásico. La intensidad relativa de las señales se indica mediante las siguientes abreviaturas: muy fuerte (mf), fuerte (f), media (m), débil (d), muy débil (md) y ancha (a). También se emplearán las abreviaturas (a) y (h), la primera para indicar que la banda es ancha y la segunda para indicar que la señal aparece como un hombro.

3.1.2.- Espectroscopía de RMN.

Los espectros de **RMN** de sólidos han sido medidos en Servicio de Caracterización del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros del **CSIC** en un espectrómetro Avance III 400 de Bruker. Las técnicas empleadas han sido:

.- **RMN** de P-31 de transferencia de polarización cruzada (**PTPC**) y rotación en ángulo mágico (**RAM**) (**RMN** de P-31 **PTPC-RAM**), **RMN** de P-31 **RAM** con y sin desacoplamiento de protones.

Salvo que se especifique lo contrario, los espectros de RMN de P-31 son de rotación en ángulo mágico y con desacoplamiento de protones, RMN de P-31 (s).

.- **RMN** de H-1 de rotación en ángulo mágico, **RMN** de H-31.

.- **RMN** de C-13 de rotación en ángulo mágico y con desacoplamiento de protones, **RMN** de C-13.

Los valores de los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) respecto a la señal del ácido fosfórico.

Los espectros de **RMN** de las figuras 2.15 y 2.38 han sido medidos en un espectrómetro AV300 perteneciente a los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo.

3.1.3.- Difracción de Rayos X (DRX).

Los difractogramas de rayos X presentes en este trabajo han sido llevados a cabo en los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo, mediante el uso de un difractómetro de rayos X "*Bruker D8 Discover*".

3.1.4.- Microscopía Electrónica de Transmisión (MET).

Las micrografías y los microanálisis presentes en este trabajo han sido obtenidos en un Microscopio Electrónico de Transmisión (**MET**) "*JEOL JEM-2100*", perteneciente a los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo.

Las muestras previamente a su análisis son dispersadas en etanol para posteriormente ser depositadas en una rejilla de cobre.

Esta técnica tiene asociada la Espectroscopía de Dispersión de Energía de Rayos X (**EDE**), además de Difracción de electrones cuyos valores de 2θ serán los asociados para las distintas distancias interplanares en la difracción de rayos X (**DRX**).

3.1.5.- Fluorescencia.

Los espectros de fluorescencia han sido obtenidos con un espectrofotómetro de fluorescencia "*Varian Cary Eclipse*" usando una longitud de onda de excitación fija de 265 nm con una anchura de rendija de excitación y emisión de 10 nm. Todas las medidas fueron llevadas a cabo usando cubetas de cuarzo de fluorescencia.

3.1.6.- pH.

Las medidas de pH han sido llevadas a cabo con un pH-metro "*Crison micropH 2001*".

3.2.- Preparación de las Nanopartículas

- *Preparación de NPFT.*

Las nanopartículas de Fosfato de Titanio, **NPFT**, han sido preparadas siguiendo el procedimiento descrito en la referencia[1] con mínimas modificaciones para adaptarlo a nuestro laboratorio.

RMN (P-31 TPC-RAM): Señal muy ancha desde 2 a -33 ppm con máximos claramente definidos a ***-27,5 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$); ***-20 ppm*** ($(HPO_4)^{2-}$); ***-12 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***-4 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$). (Véase *Figura 2.7*)

RMN (P-31 (s)): Señal muy ancha desde 2 a -33 ppm con máximos claramente definidos a ***-28 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$); ***-20 ppm*** ($(HPO_4)^{2-}$); ***-13 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***-6 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$) *(Véase Figura 2.10).*

RMN (P-31 RAM/sin desacoplamiento de H-1): Señal muy ancha desde 2 a -33 ppm con máximos claramente definidos a ***-28 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$); ***-21 ppm*** ($(HPO_4)^{2-}$); ***-14 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***-6 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$) y **0 ppm** (H_3PO_4). (Véase *Figura 2.10*)

RMN (H-1 (s)): Señales a δ ***1 ppm*** (CH_2, CH_3); ***4 ppm*** (H_2O) y ***8 ppm*** (P-OH). *(Véase Figura 2.9)*

Distribución de tamaño (asociado al MET) (MET): 30 ± 5 nm. *(Véase Figura 2.2)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)
NPFT	65,55 ± 4,80	3,68 ± 0,13	22,18 ± 3,33	8,59 ± 1,37

DRX (asociado al MET) (2θ, % intensidad): ***14,5*** (10%); ***20,4*** (11 %); ***20,9*** (10%); ***24,4*** (100%); ***25,6*** (6%); ***29,4*** (22%); ***32,5*** (43%); ***36,6*** (11%); ***43,3*** (6%); ***44,5*** (4%); ***47,0*** (8%); ***49,9*** (14%); ***53,9*** (10%); ***57,4*** (12%); ***58,9*** (4%); ***60,9*** (3%); ***62,7*** (6%); ***65,7*** (5%); ***69,7*** (4%); ***71,6*** (2%); ***73,9*** (5%); ***77,8*** (3%). *(Véase Figura 2.4)*

Difracción de electrones (d en Å y 2θ en °): ***3,04*** (29,4); ***3,66*** (24,3); ***6,06 Å*** (14,6). *(Véase Figura 2.6)*

IR (KBr): ***3431*** m, a, ν(-OH); ***2960*** d, ν(C-H) (Docusato Sódico); ***1631*** d, δ(H-OH); ***1227*** h, f, δ(P-O-H), (fosfatos ácidos) ; ***1028*** a, mf, (ν(P=O); ***802*** m; ***640*** m, h; ***581*** m, (HO-P=O); ***508*** m (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.12)*

- *Preparación de NPFT-H.*

La hidrólisis tiene lugar en estado sólido debida al agua retenida en las **NPFT**.

RMN (P-31 (s)) después de una semana: Señal muy ancha desde 2 a -33 ppm con máximos claramente definidos a ***-28 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$); ***-20 ppm*** ($(HPO_4)^{2-}$); ***-13 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***-6 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***0 ppm*** (H_3PO_4). (Véase *Figura 2.13*)

RMN (P-31 (s)) después de cuatro meses: Señal muy ancha desde 2 a -33 ppm con máximos claramente definidos a ***-28 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$); ***-21 ppm*** ($(HPO_4)^{2-}$); ***-14 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***-12 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***-6 ppm*** ($(H_2PO_4)^{1-}$); ***0 ppm*** (H_3PO_4). (Véase *Figura 2.13*)

La hidrólisis en contacto con agua

Se calienta con agitación una suspensión de 40 mg de **NPFT** en 17 mL de agua a 50 °C durante 2 horas. A continuación, se deja enfriar la suspensión hasta la temperatura ambiente y se centrifuga a 10.000 rpm durante 5 minutos. El sólido blanco que se obtiene, se lava 3 veces con 5 mL de agua mQ y se separa (cada vez) mediante centrifugación. Finalmente, el sólido se seca a vació a temperatura ambiente durante una noche.

RMN (P-31 (s)): señal ancha desde +7 hasta +33 con máximos a δ ***1*** (H_3PO_4); ***-4,*** $(H_2PO_4)^-$; ***-13, -21*** $(HPO_4)^{2-}$; -***27 ppm*** $(PO_4)^{3-}$ ***.*** *(Véase Figura 2.14)*

Distribución de tamaño (MET): 31 ± 3 nm. *(Véase Figura 2.16)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)
NPFT-H	66,67 ± 3,37	1,95 ± 0,58	20,17 ± 2,16	11,22 ± 1,37

DRX (asociado al MET) (2θ, % intensidad): ***14,4*** (10%); ***17,8*** (2%); ***20,4*** (23%); ***20,9*** (17%); ***24,4*** (100%); ***25,4*** (7%); ***29,4*** (27%); ***32,5*** (47%); ***36,6*** (13 %); ***44,5*** (5%); ***46,8*** (11%); ***49,8*** (17%); ***53,9*** (14%); ***57,4*** (17%); ***62,7*** (6%); ***65,9*** (8%); ***73,8*** (5%); ***78,1*** (4%). *(Véase Figura 2.18)*

Difracción de electrones (d en Å y 2θ en °): ***3,00*** (29,8); ***3,62*** (24,6) y ***4,23 Å*** (21,0). *(Véase Figura 2.20)*

IR (KBr): ***3421*** f, a, ν(-OH); ***1631*** m, a δ(H-OH); ***1219*** h, f δ(P-O-H), (fosfatos ácidos); ***1032*** a, mf ν(P=O); ***640*** m; ***581*** m (HO-P=O); ***512*** m (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.17)*

- *Preparación de NPFT-Cd-1-TA-1; NPFT-Cd-1-TA-2.*

Se prepara una disolución acuosa nitrato de cadmio (10 mM para **NPFT-Cd-1-TA-1** y 20 mM para **NPFT-Cd-1-TA-2**) a la que se le añaden 40 mg de **NPFT**. La suspensión se agita durante 24 horas a temperatura ambiente. Seguidamente se separa el producto blanco obtenido por centrifugación (10.000 rpm, 5 minutos) Después, se lava el sólido 3 veces con 5 mL de agua mQ. Finalmente, se seca a vacío a temperatura ambiente durante una noche.

- *Preparación de NPFT-Cd-1-TA-1.*

Distribución de tamaño (MET): ***29 ± 4 nm***. *(Véase Figura 2.21)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1-TA-1	64,23 ± 3,85	4,04 ± 0,04	19,02 ± 1,50	11,68 ± 2,26	1,04 ± 0,13

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***2,79*** (32,1) y ***3,65 Å*** (24,4). *(Véase Figura 2.22)*

IR (KBr): ***3421*** f, a, ν(-OH)***; 2960*** md, ν(CH), (Docusato Sódico); ***1626*** m, a, δ(H-OH***; 1220*** f, (δ(P-O-H), fosfatos ácidos)***; 1028*** mf, a, ν(P=O)***; 802 m; 645*** m***; 581*** m (HO-P=O)***; 513*** m, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.23)*

- *Preparación de NPFT-Cd-1-TA-2.*

***Distribución de tamaño (MET):* 30 ± 4 nm**. *(Véase Figura 2.21)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1-TA-2	66,98 ± 2,76	2,20 ± 0,13	18,37 ± 1,97	11,40 ± 0,38	1,06 ± 0,27

***Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °):* 3,67 Å** (24,3). *(Véase Figura 2.22)*

IR (KBr):* 3421** f, a, ν(-OH);* 2960** md, ν(CH), (Docusato Sódico)***;* 1631** m,a δ(H-OH)***;* 1220** h, f, δ(P-O-H) (Fosfatos ácidos); ***1028*** mf, a, (ν(P=O); ***802*** m; ***640*** m; ***581*** m, (HO-P=O); ***513*** m, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos)). *(Véase Figura 2.23)*

- *Preparación de NPFT-Cd-1, NPFT-Cd-2, NPFT-Cd-3.*

Se prepara una disolución acuosa de la sal de cadmio correspondiente (nitrato de cadmio tetrahidratado, 52 mg, para ***NPFT-Cd-1***; acetato de cadmio dihidratado, 45 mg, para ***NPFT-Cd-2***; y acetilacetonato de cadmio, 53 mg, para ***NPFT-Cd-3***) (0,17 mmoles) en 17 mL de agua mQ a la que se le añaden 40 mg de **NPFT**. La suspensión se calienta a 50 °C durante 24 horas. Seguidamente se separa el producto blanco obtenido por centrifugación (10.000 rpm, 5 minutos). Después, se lava el sólido 3 veces con 5 mL de agua mQ. Finalmente, se seca a vacío a temperatura ambiente durante una noche.

- *Preparación de NPFT-Cd-1.*

Distribución de tamaño (MET): ***31 ± 5 nm.*** *(Véase Figura 2.24)*

RMN (P-31 (s)): Una señal ancha desde 8 hasta -33ppm con picos claramente definidos a δ ***-20*** ppm ($(HPO_4)^{2-}$); y a ***-27 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) *(Véase Figura 2.26)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1	65,56 ± 1,32	2,36 ± 0,01	20,54 ± 1,10	10,52 ± 0,25	1,02 ± 0,03

DRX: ***14,6*** (14%); ***18,1*** (9%); ***24,4*** (100%), ***29,4*** (38%); ***32,6*** (49%); ***36,7*** (10%); ***50,0*** (13%); ***57,5*** (13%). *(Véase Figura 2.27)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,60 Å*** *(24,7). (Véase Figura 2.35)*

IR (KBr): ***3441*** *f, a,* ν(-OH); ***2960*** *md*, ν(CH) (Docusato Sódico); ***2930*** (*md*, ν(CH) (Docusato Sódico); ***1631*** *m, a* δ(H-OH); ***1220*** *h, f,* δ(P-O-H) (Fosfatos ácidos); ***1028*** *mf, a,* ν(P=O); ***800*** *m*; ***645*** *m;* ***576*** *m* (HO-P=O); ***513*** m (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.25)*

- *Preparación de NPFT-Cd-2.*

Distribución de tamaño (MET): ***33 ± 4 nm.*** *(Véase Figura 2.30)*

RMN (P-31 (s)): Una señal ancha desde 18 hasta -34ppm con picos claramente definidos a δ ***-20*** ppm ($(HPO_4)^{2-}$) y a ***-27 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) y otro menos definido hacia **3,2 ppm.** *(Véase Figura 2.33)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-2	67,39 ± 0,39	1,59 ± 0,28	17,04 ± 0,10	7,26 ± 0,15	6,72 ± 0,12

DRX: ***20,9*** (49%); ***24,3*** (94%); ***27,5*** (13%); ***29,1*** (23%); ***32,5*** (100%); ***36,6*** (28%); ***46,7*** (14%); ***49,7*** (23%); ***53,6*** (11%); ***57,4*** (17%); ***63,0*** (5%); ***72,0*** (6 %). *(Véase Figura 2.34)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,62*** (24,6) y ***4,19 Å*** (21,2). *(Véase Figura 2.35)*

IR (KBr): ***3440*** f,a ν(-OH)**;** ***2960*** md, ν(CH) (Docusato Sódico)***;*** ***2921*** md, ν(CH) (Docusato Sódico); ***1621*** d,a δ(H-OH)**;** ***1212*** h, d, δ(P-O-H) (Fosfatos ácido); ***1023*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m***;*** ***640*** *d;* ***581*** h,m, (HO-P=O); ***537*** m. *(Véase Figura 2.31)*

- *Preparación de NPFT-Cd-3.*

Distribución de tamaño (MET): ***31 ± 6 nm.*** *(Véase Figura 2.30)*

RMN (P-31 (s)): Una señal a δ ***-27 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) y señales anchas desde 19 hasta -23 ppm con máximos en ***-20,2*** y ***3,6 ppm****. (Véase Figura 2.33)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-3	62,41 ± 2,96	2,21 ± 0,33	18,07 ± 1,20	7,43 ± 0,60	9,88 ± 1,13

DRX: ***20,9*** (34%); ***24,2*** (65%); ***29,3*** (26%); ***32,4*** (100%); ***36,6*** (29%); ***44,6*** (9%); ***46,6*** (15%); ***49,7*** (29%); ***53,6*** (10 %); ***63,4*** (11%). *(Véase Figura 2.34)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,59 Å*** (24,8). *(Véase Figura 2.35)*

IR (KBr): ***3421*** f, a, ν(-OH); ***2960*** md, ν(CH) (Docusato Sódico); ***2921*** ν(CH) (Docusato Sódico); ***1621*** d,a, δ(H-OH); ***1215*** h, md, δ(P-O-H); ***1023*** mf, a, ν(P=O); ***635*** m; ***547*** f**.** *(Véase Figura 2.31)*

- *Preparación de NPFT-H-Cd.*

Se prepara una suspensión de **NPFT** (40 mg) en 17 mL de agua mQ que se calienta bajo agitación a 50 °C durante 2 horas. Transcurrido este tiempo se añaden 52 mg de $Cd(NO_3)_2.4H_2O$ (0,17 mmoles) manteniendo la agitación y temperatura durante 22 horas más. Finalmente el producto obtenido se aísla mediante centrifugación (10000 rpm; 5 min) y se lava con agua mQ varias veces antes de secarlo a vacío a t.a. 12 h.

Distribución de tamaño (MET): 30 ± 4 nm. *(Véase Figura 2.39)*

RMN (P-31 (s)): Una señal a δ ***-27 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$); señales anchas desde 8 hasta -24 ppm con un máximo a ***-20 ppm***. *(Véase Figura 2.41)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-H-Cd	62,28 ± 6,04	2,32 ± 0,49	21,60 ± 3,54	12,68 ± 2,39	1,12 ± 0,19

DRX: ***14,6*** (12%); ***20,4*** (18%); ***21,0*** (25%); ***24,4*** (100 %); ***29,3*** (28%); ***32,6*** (50%); ***36,7*** (15%); ***43,2*** (7%); ***44,5*** (8%); ***47,0*** (13%); ***49,8*** (19%); ***53,7*** (13%); ***57,2*** (18%); ***59,0*** (6%); ***60,9*** (4%); ***62,6*** (8%); ***65,9*** (7%); ***73,9*** (5%). *(Véase Figura 2.42)*

IR (KBr): ***3421*** mf, a, ν(-OH); ***2960*** md, ν(CH) (Docusato Sódico); ***1626*** f, a, δ(H-OH); ***1028*** mf, a, ν(P=O); ***800*** m; ***645*** m; ***576*** *m* (HO-P=O); ***513*** *m* (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.40)*

- *Preparación de NPFT-Hg-1, NPFT-Hg-2.*

Se prepara una disolución acuosa de la sal de mercurio correspondiente (nitrato de mercurio dihidratado, 58 mg, para ***NPFT-Hg-1***; y acetato de mercurio monohidratado, 54 mg, para ***NPFT-Hg-2***) (0,17 mmoles) en 17 mL de agua mQ a la que se le añaden 40 mg de **NPFT**. La suspensión se calienta a 50 °C durante 24 horas. A continuación, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se separa por centrifugación un polvo blanco que se lava en la etapa posterior también por centrifugación con agua mQ. Finalmente, se seca a vacío a t.a. una noche hasta obtener un sólido blanco.

- *Preparación de NPFT-Hg-1.*

Distribución de tamaño (MET): ***29 ± 5 nm.*** *(Véase Figura 2.43)*

RMN (P-31 (s)): Una señal a δ ***-28 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) y señales anchas con máximos a ***-17***, ***+5*** y ***+16 ppm***. *(Véase Figura 2.46)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Hg (%)
NPFT-Hg-1	70,67 ± 2,22	0,67 ± 0,08	19,07 ± 1,24	8,57 ± 0,63	1,03 ± 0,42

DRX: ***24,2*** (63%); ***31,1*** (87%); ***32,4*** (100%). *(Véase Figura 2.47)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,64 Å*** (24,5). *(Véase Figura 2.48)*

IR (KBr): ***3431*** m, a, ν(-OH); ***2960*** d, (ν(CH), Docusato Sódico); ***2921*** d, (ν(CH), Docusato Sódico); ***1616*** d, a, δ(H-OH); ***1260*** h, f; ***1018*** mf, a, ν(P=O); ***800***; ***635*** *d*; ***522*** *m*. *(Véase Figura 2.45)*

- *Preparación de NPFT-Hg-2.*

Distribución de tamaño (MET): 32 ± 6 nm. *(Véase Figura 2.44)*

RMN (P-31 (s)): Una señal ancha desde 20 hasta -37ppm con picos claramente definidos a δ ***-27 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) a ***-17*** y ***-0,8 ppm***. *(Véase Figura 2.46)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Hg (%)
NPFT-Hg-2	70,00 ± 2,33	1,29 ± 0,19	18,67 ± 1,51	7,90 ± 0,70	2,14 ± 0,20

DRX: ***21,1*** (38%); ***24,5*** (95%); ***32,7*** (100%). *(Véase Figura 2.47)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,57 Å*** (24,9). *(Véase Figura 2.48)*

IR (KBr): ***3421*** m, ν(-OH); ***2960*** d, (ν(CH), Docusato Sódico); ***1612*** md, a, δ(H-OH); ***1260***; ***1018*** mf, a, ν(P=O); ***635*** d; ***532*** ***m.*** *(Véase Figura 2.45)*

- *Preparación de NPFT-Cu-2.*

Se prepara una disolución acuosa de acetato de cobre monohidratado (37 mg; 0,17 mmoles) en 17 mL a la que se le añaden 40 mg de **NPFT**. La suspensión se calienta a 50 °C durante 24 horas. Seguidamente se separa el producto azul obtenido por centrifugación (10.000 rpm, 5 minutos). Después, se lava el sólido 3 veces con 5 mL de agua mQ. Finalmente, se seca a vacío a temperatura ambiente durante una noche.

Distribución de tamaño (MET): 31 ± 5 nm. *(Véase Figura 2.51)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cu (%)
NPFT-Cu	66,75 ± 2,59	3,44 ± 0,04	14,36 ± 2,28	8,03 ± 0,46	7,39 ± 0,87

DRX: ***14,6*** (17%); ***18,1*** (37%); ***20,3*** (24%); ***21,1*** (36%); ***24,5*** (36 %); ***29,4*** (35%); ***32,6*** (70%); ***36,7*** (15%); ***46,8*** (17%); ***49,9*** (20 %); ***53,5*** (16%); ***68,5*** (14%). *(Véase Figura 2.53)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***2,72*** (32,9); ***3,00*** (29,8); ***3,67*** (24,3) y ***4,34 Å*** (20,5). *(Véase Figura 2.54)*

IR (KBr): ***3421*** f, ν(-OH); ***2960*** d, ν(CH) (Docusato Sódico), (d); ***2921*** d, ν(CH) (Docusato Sódico); ***1628*** d, a, δ(H-OH); ***1024*** mf, a, ν(P=O); ***635*** m; ***557*** m; ***517*** m. *(Véase Figura 2.52)*

EFX: *(Véase Figura 2.61)*

Muestra	*Cu $2p_{3/2}$*	*P2p*	*Ti $2p_{3/2}$*	*O 1s*	*Na 1s*
NPFT-Cu-2	935,1 *0,729*	133,4	459,5	530,8 (87) 532,7 (13)	---------

- *Preparación de NPFT-Cu-OH.*

Se prepara una suspensión de 80 mg de **NPFT-Cu-2** en 5 mL de una disolución 0,1 M de NaOH que se centrifuga durante 60 segundos. Seguidamente se separa el producto azul obtenido por centrifugación (10.000 rpm, 5 minutos) Después, se lava el sólido 3 veces con 5 mL de agua mQ. Finalmente, se seca a vacío a temperatura ambiente durante una noche.

Distribución de tamaño (MET): ***30 ± 5 nm.*** *(Véase Figura 2.57)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cu (%)
NPFT-Cu-OH	62,41 ± 0,40	5,315 ± 1,05	15,14 ± 0,03	7,23 ± 0,33	9,905 ± 1,80

DRX: ***14,5*** (11%); ***18,0*** (14%); ***20,2*** (29%); ***20,9*** (23%); ***24,3*** (100%); ***29,4*** (41%); ***32,4*** (67 %); ***36,8*** (16%); ***57,2*** (13%). *(Véase Figura 2.59)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***2,76*** (32,4) y ***3,64 Å*** (24,5). *(Véase Figura 2.60)*

IR (KBr): ***3434*** m,a, ν(-OH); ***2960*** d, ν(CH), (Docusato Sódico); ***1629*** d, a, δ(H-OH); ***1030*** mf, a ν(P=O); ***637*** m; ***555*** m. *(Véase Figura 2.58)*

XPS: *(Véase Figura 2.61)*

Muestra	*Cu $2p_{3/2}$*	*P2p*	*Ti $2p_{3/2}$*	*O 1s*	*Na 1s*
NPFT-Cu-OH	**935,2** ***0,714***	**133,6**	**459,5**	**531,3 (89)** **533,3 (11)**	**----------**

- *Preparación de NPFT-Ag-1, NPFT-Ag-2.*

Se prepara una disolución acuosa 10 mM de la sal de plata correspondiente, 29 mg (0,17 mmoles) de nitrato de plata para ***NPFT-Ag-1*** y 28 mg (0,17 mmoles) de acetato de plata para ***NPFT-Ag-2***, en 17 mL de agua mQ a la que se le añaden 40 mg de **NPFT**. La suspensión se calienta a 50 °C durante 24 horas. Seguidamente se separa el producto blanco obtenido por centrifugación (10.000 rpm, 5 minutos) Después, se lava el sólido 3 veces con 5 mL de agua mQ. Finalmente, se seca a vacío a temperatura ambiente durante una noche.

- *Preparación de NPFT-Ag-1.*

Distribución de tamaño (MET): ***28 ± 4 nm.*** *(Véase Figura 2.62)*

RMN (P-31 (s)): Señales anchas desde 8 hasta -33 con un máximo muy intenso a δ ***-28 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) y con máximos menos destacados y con intensidad decreciente a ***-20***; ***-12***; ***-4,5*** y ***+0,5 ppm***. *(Véase Figura 2.64)*

EDE:

	O (%)	**Na (%)**	**P (%)**	**Ti (%)**	**Ag (%)**
NPFT-Ag-1	66,18 ± 4,83	0,18 ± 0,46	17,6 ± 1,67	10,48 ± 1,72	5,56 ± 3,12

DRX: ***21,0*** (72 %); ***24,3*** (93%); ***25,7*** (22%); ***29,3*** (13%); ***29,3*** (13%); ***32,3*** (100%); ***33,4*** (22%); ***34,8*** (10%); ***36,8*** (18%); ***41,1*** (5%); ***43,0*** (6%); ***44,5*** (9%); ***46,5*** (10%); ***49,7*** (18%); ***53,5*** (3%); ***56,2*** (6%); ***57,8*** (7%); ***63,5*** (6%); ***71,8*** (2%). *(Véase Figura 2.65)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***2,38*** (37,8) debido a la plata metálica; ***3,62*** (24,6) ***y 4,24 Å*** (21,0) debido al $NaTi_2(PO_4)_3$. *(Véase Figura 2.66)*

IR (KBr): ***3421*** f,a, ν(-OH); ***2970*** d, ν(CH_2) (Docusato Sódico); ***1631*** m, a, δ(H-OH); ***1023*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m; ***640*** m; ***581*** m, (HO-P=O); ***513*** f, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.63)*

- *Preparación de NPFT-Ag-2.*

Distribución de tamaño (MET): ***32 ± 5 nm.*** *(Véase* Figura 2.62*)*

RMN (P-31 (s)): Señales anchas e intensas desde 10 hasta -32 ppm con un máximo muy destacado a δ ***-27*** ($(PO_4)^{3-}$). *(Véase Figura 2.64)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Ag (%)
NPFT-Ag-2	57,55 ± 6,37	0,33 ± 0,38	17,44 ± 2,25	11,85 ± 1,86	12,84 ± 2,56

DRX: ***17,8*** (17%); ***20,9*** (36%); ***24,3*** (71%); ***25,5*** (19%); ***32,3*** (100%); ***36,7*** (59%); ***41,0*** (55%); ***44,7*** (13%); ***46,5*** (25%); ***49,8*** (29%); ***72,4*** (63%); ***75,4*** (29%). *(Véase Figura 2.65)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***2,07*** (43,7) y ***2,38 Å*** (37,8) debido a la plata metálica. *(Véase Figura 2.66)*

IR (KBr): ***3421*** m, a, ν(-OH); ***2960*** d, ν(CH), (Docusato Sódico); ***1626*** d, a, δ(H-OH); ***1023*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m; ***635*** *m*; ***576*** m, (HO-P=O); ***513*** m, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.63)*

- *Preparación de NPFT-Cd-2-HCl.*

Se prepara una suspensión de 80 mg de **NPFT-Cd-2** en 5 ml de una disolución 0,1 M de HCl. Esta suspensión es centrifugada durante 60 segundos, al cabo de este tiempo se separa el sobrenadante del sólido, el cual es lavado varias veces con agua mQ mediante centrifugación.

Distribución de tamaño (MET): ***32 ± 5 nm.*** *(Véase Figura 2.67)*

RMN (P-31 (s)): Señales anchas desde 8 hasta -33 con un máximo muy intenso a a δ ***-27*** ($(PO_4)^{3-}$) y con máximos menos destacados y con intensidad decreciente a ***-21*** ppm ($(HPO_4)^{2-}$) y ***-13***; ***-5*** ($(H_2PO_4)^{-}$). *(Véase Figura 2.69)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
FT-Cd-2-HCl	69,94 ± 1,55	1,73 ±0,23	18,49 ±1,02	9,17 ±0,62	0,67 ±0,22

DRX: ***14,6*** (10%); ***20,2*** (11%); **21,0** (21%); ***24,4*** (100%); ***29,4*** (28%); ***32,6*** (50%); ***36,8*** (11%); ***47,0*** (8%); ***50,0*** (15%); ***53,9*** (10 %); ***57,6*** (14%); ***74,1*** (5%). *(Véase Figura 2.70)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,67*** (24,3) y ***4,31 Å*** (20,6). *(Véase Figura 2.71)*

IR (KBr): ***3431*** m, a, ν(-OH); **2960** d, (ν(CH), Docusato Sódico); **2920** d, (ν(CH), Docusato Sódico); ***1626*** d, a, δ(H-OH); ***1033*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m; ***640*** d; ***581*** d, (HO-P=O); ***513*** m, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.68)*

- *Preparación de NPFT-Hg-2-HCl.*

Se prepara una suspensión de 80 mg de **NPFT-Hg-2** en 5 ml de una disolución 0,1 M de HCl. Esta suspensión es centrifugada durante 60 segundos, al cabo de este tiempo se separa el sobrenadante del sólido, el cual es lavado varias veces con agua mQ mediante centrifugación.

Distribución de tamaño (MET): 27± 4 nm. *(Véase Figura 2.74)*

RMN (P-31 (s)): Una señal a δ ***-28*** ($(PO_4)^{3-}$) y señales anchas desde 8 hasta -24 ppm con un máximo a ***-21*** ppm. *(Véase Figura 2.76)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Hg (%)
FT-Hg-2-HCl	61.29 ± 6.49	0,00 ± 0,00	21.78 ± 3.54	16.94 ± 3.28	0,00 ± 0,00

DRX: ***14,6*** (5%); ***18,1*** (7%); ***21,5*** (44%); ***24,5*** (30%); ***28,2*** (100%); ***29,5*** (12%); ***31,5*** (14%); ***32,8*** (30 %); ***40,3*** (15%); ***43,8*** (41%); ***46,2*** (38%); ***52,9*** (12%); ***58,2*** (10%); ***62,9*** (16%); ***65,9*** (5 %); ***68,5*** (10 %); ***75,8*** (7 %), ***77,5*** (4%). *(Véase Figura 2.77)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,68 Å*** (24,2). *(Véase Figura 2.78)*

IR (KBr): ***3441*** f, a, ν(-OH); ***2960*** f, a, (ν(CH), Docusato Sódico); ***1631*** m, a, δ(H-OH); ***1038*** mf, a, ν(P=O); ***800*** m; ***640*** *m*; ***581*** m, (HO-P=O); ***513*** f, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos). *(Véase Figura 2.75)*

- *Preparación de NPFT-OA-1.*

Inicialmente se prepara una disolución (llamada disolución A) de imidazol en agua de forma que la concentración de imidazol sea 0.1 M y se añade una disolución de ácido clorhídrico 0.1 N hasta que el pH es 6. De otro lado se prepara una disolución de n-octilamina en la disolución A (llamada disolución B) de forma que la concentración de n-octilamina sea 266 mM.

A continuación, en un vial de 20 mL se pesan 4 mg de EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) a los que se añade una dispersión de 15 mg de **NPFT** en 400 µL de la disolución A. Tras agitar 10 minutos, se añaden otros 200 µL de la disolución A, a fin de mantener el pH a 6. Posteriormente se agita la suspensión resultante durante 4 horas a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo se añade a la suspensión 500 µL de la disolución B de forma que al final la concentración de n-octilamina resulta ser 121 mM. Seguidamente se agita la mezcla durante 2 días a temperatura ambiente. Después se aísla el producto buscado centrifugando para eliminar el sobrenadante. El producto obtenido se lava sucesivamente con agua mQ (3 x 5 mL) y con una mezcla agua/etanol, 50:50 en volumen, (3x 5 mL). Finalmente se seca a vacío una noche a temperatura ambiente

IR (KBr): ***3421*** m, a, ν(-OH); ***3200*** m, a, ν(-NH); ***3028*** m, ***2960*** f**,** ν(CH)**;** ***2921*** f**,** ν(CH); ***2842*** f**,** ν(CH); ***1631*** d, a, δ(H-OH); ***1600*** h,d δ (N-H); ***1504*** md, δ (N-H); ***1464*** md, δ (CH_2); ***1227*** mf, ***1018*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m; ***640*** d; ***518*** d. *(Véase Figura 2.83)*

RMN (P-31 (s)): Señales anchas desde 10 hasta -33 con un máximo muy intenso a δ ***-27 ppm*** ($(PO_4)^{3-}$) y con dos máximos menos destacados a ***-19*** y ***-2 ppm.*** *(Véase Figura 2.84)*

RMN (C-13): ***14,5***; ***23,5***; ***28,5***; ***30,5***; ***32,5*** y ***42 ppm.*** *(Véase Figura 2.84)*

- *Preparación de NPFT-OA-2.*

Se dispersan 50 mg de **NPFT** en 3 mL de una disolución (50/50 en volumen, agua/etanol) de una concentración 125 mM (62 µL). Se agita la dispersión durante 2 días a temperatura ambiente. Posteriormente, el producto es aislado mediante centrifugación y se lava con agua mQ (3x5 mL) con una mezcla etanol/agua (50:50 en volumen). Finalmente se seca el producto a vacío durante una noche.

IR (KBr): ***3441*** mf, a, ν(-OH)***; 3200*** mf, a, ν(-NH)***; 3020*** *mf, a,* ν(-NH); ***2960*** mf, (ν(CH)***; 2920*** mf, (ν(CH)***; 2852*** mf, (ν(CH))***; 1636*** d, a, δ(H-OH)***; 1504*** d, δ *(N-H)*; ***1464*** d, δ(N-H)***; 1106*** f, ν(P=O)); ***994*** mf, a, ν(P=O); ***797***; ***718***; ***630*** md, ***532*** d, ***458*** d. *(Véase Figura 2.89)*

RMN (P-31): Señales anchas desde 15 hasta -33 ppm con un máximo a δ *-28* ($(PO_4)^{3-}$) y otro a -1,6 ppm. *(Véase Figura 2.87)*

DRX: ***6,7*** (42%); ***18,0*** (23%); ***24,2*** (100%); ***29,3*** (24%); ***32,4*** (72%); ***49,6*** (24%). *(Véase Figura 2.88)*

- *Preparación de NPFT-OA-2-A.*

Se prepara una suspensión de 80 mg de **NPFT-OCT** y NH_4Cl (2,8 M) en una mezcla agua mQ/etanol (50:50) y se mantiene agitando durante dos días a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifuga el producto obtenido para eliminar el sobrenadante y se lava el producto con una mezcla agua mQ/etanol (50:50 en volumen) (3x5 mL). Finalmente se seca a vacío durante una noche.

IR (KBr): ***3431*** f, a, ν(-OH)***; 3186*** f, a, ν(-NH)***; 2950*** md, ν(CH_2)***; 1631*** d, a, δ(H-OH)***; 1401*** m, δ (NH_4^+); ***1018*** mf, a, ν(P=O)***; 640*** d, ***517*** m. *(Véase Figura 2.89)*

- *Preparación de NPFT-ASB-2.*

Se dispersan 50 mg de **NPFT** en 3 mL de una disolución acuosa de albúmina (0,5 g/100 mL de disolución). Se agita la mezcla durante 2 días en un vórtex aislado de la luz y a temperatura ambiente. Posteriormente, se aísla el producto mediante centrifugación y se lava con agua mQ (3x5 mL). Finalmente, se seca a vacío durante una noche.

***Distribución de tamaño (MET)*: 31 ± 4,3 nm.** *(Véase Figura 2.90)*

IR (KBr):* *3331 (ν(-NH))**;** ***2960*** (ν(CH_2)); ***1656*** (δ(H-OH)); ***1538*** (δ (N-H)); ***1449***; ***1032*** (ν(P=O))***;*** ***635; 581*** (HO-P=O)***; 513*** (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos)***.*** *(Véase Figura 2.92)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °):* 2,99** (10,4); ***3,62 Å (24,6). *(Véase Figura 2.91)*

- *Preparación de NPFT-ASB-2-A.*

Se prepara una suspensión de 80 mg de **NPFT-ASB** y NH_4Cl (2,8 M) en agua mQ. Se agita la mezcla durante dos días a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifuga el producto obtenido y se lava con agua mQ (3x5 mL). Finalmente, el producto es secado a vacío durante una noche.

IR (KBr):* *3411 m, ν(-OH); ***3215*** m, ν(-NH); ***2960*** md, ν(CH_2); ***1641*** d, δ(H-OH); ***1533*** d, δ *(N-H)*; ***1401*** d, δ *(N-H)*; ***1023*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m; ***645*** d; ***580*** d; ***517*** m. *(Véase Figura 2.93)*

- *Preparación de NPFT-Cd-1-OA, NPFT-Cd-2-OA, NPFT-Cd-3-OA.*

Se dispersan 50 mg de **NPFT** modificadas con Cadmio (**NPFT-Cd-1**, **NPFT-Cd-2**, **NPFT-Cd-3**) en 3 mL de una disolución (50/50 en volumen, agua/etanol) de una concentración 121 mM (60 µL). Se agita la dispersión durante 2 días a temperatura ambiente. Posteriormente, el producto es aislado mediante centrifugación y se lava con agua mQ (3x5 mL) con una mezcla etanol/agua (50:50 en volumen). Finalmente se seca el producto a vacío durante una noche.

- *Preparación de NPFT-Cd-1-OA.*

***Distribución de tamaño (MET)*: 31 ± 4 nm.** *(Véase Figura 2.97)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1-OA	58,36 ± 1,39	3,45 ± 0,43	20,67 ± 0,94	15.85 ± 0,74	1,66 ± 0,20

DRX: ***14,5*** (8%); ***21,0*** (32%); ***24,3*** (100%); ***29,4*** (29 %); ***32,5*** (68%); ***36,5*** (12%); ***46,8*** (9 %); ***57,3*** (15%)**.** *(Véase Figura 2.98)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,67*** (24,3) y ***4,38 Å*** (29,9). *(Véase Figura 2.99)*

IR (KBr): ***3421*** mf, a, ν(-OH); ***3176*** f, a, ν(-NH); ***2960*** f, ν(CH_2); ***2920*** f, ν(CH_2); ***2852*** f, ν(CH_2); ***1631*** d, a, δ(H-OH); 1540 d, δ(RNH_3), ***1469*** d, ν(CH_2)***; 1023*** mf, a, ν(P=O); ***802*** d; ***724*** d; ***640*** d; ***540*** m**.** *(Véase Figura 2.95)*

RMN (C-13): Señales a ***15***, ***24***, ***31***, ***33***, ***41*** y ***44*** ppm*. (Véase* Figura 2.96*)*

RMN (P-31): Señales anchas desde 15 hasta -33 con un máximo muy intenso a δ **-28** ($(PO_4)^{3-}$) ppm y otros dos a ***-21*** y a **-1,5** ppm. (Véase *Figura 2.96*)

- *Preparación de NPFT-Cd-1-OA-HCl.*

Se dispersan 80 mg de **NPFT-Cd-1-OA** en 5 ml de una disolución acuosa 0,1 M de HCl. Esta suspensión es centrifugada durante 60 segundos, al cabo de este tiempo se separa el sobrenadante del producto que es lavado con agua mQ (3x5 mL) primero y una mezcla agua mQ/etanol (3X5 mL) después mediante centrifugación. Finalmente, el producto es secado a vacío durante una noche.

Distribución de tamaño (MET)*: *31 ± 4 nm. *(Véase* Figura 2.100*)*

EDE:

	O (%)	Na (%)	P (%)	Ti (%)	Cd (%)
NPFT-Cd-1-OA-HCl	59,97 ± 2,36	2,73 ± 0,32	22,75 ± 1,39	14,13 ± 1,03	0,42 ± 0,20

DRX: ***14,5*** (8%); ***20,3*** (23%); ***20,9*** (27%); ***25,0*** (100%); ***29,4*** (33%); ***32,5*** (49%); ***36,7***(13%); ***47,0*** (8%); ***49,8*** (18%); ***53,9*** (9%); ***57,5*** (15%). *(Véase Figura 2.102)*

Difracción de electrones (asociado al MET) (d en Å y 2θ en °): ***3,62*** (24,6) y ***4,28 Å*** (20,8). *(Véase Figura 2.103)*

IR (KBr): ***3411*** m, ν(-OH)***; 3188*** m, ν(-NH)***; 2960*** d, ν(CH_2); ***2920*** d, ν(CH_2); ***2862*** d, ν(CH_2); ***1631*** d, a, δ(H-OH); ***1464*** md, ν(CH_2); ***1219*** h,m; ***1028*** mf, a, ν(P=O); ***802*** m; ***581*** m*;* ***513*** m, (ρ(PO_2), Dihidrógenofosfatos) *(Véase Figura 2.101)*

RMN (P-31): Señales anchas desde 15 hasta -33 con un máximo muy intenso a δ **-28** ($(PO_4)^{3-}$) ppm y otros dos a ***-21*** y a **3** ppm. (Véase *Figura 2.104*)

4. Conclusiones

- Los estudios de **RMN** de P-31 en estado sólido del **NPFT**; (**TPC-RAM**) **y RAM con desacoplamiento y sin desacoplamiento de protones** sugieren que la señal a -6 ppm de las NPFT corresponde a un dihidrógenofosfato. Esta asignación vine corroborada por las reacciones de las NPFT con los distintos cationes metálicos, ya que las primeras señales en modificarse siempre han sido las que aparecen a -6 y -13 ppm, las debidas a los dihidrógenofosfatos, esto es los fosfatos con protones más ácidos.
- Durante la realización de las medidas de RMN se descubrió que las NPFT sufren un proceso general de hidrólisis tanto en estado sólido como en disolución generando ácido fosfórico, H_3PO_4. Afortunadamente se demostró que tal proceso se inhibe completamente en presencia de iones metálicos y que la incorporación de cationes metálicos a NPFT se puede hacer sin problemas en agua siempre que se añadan las NPFT sobre la disolución de la sal metálica.
- La cantidad de catión incorporado a NPFT se puede modular cambiando el anión de la sal metálica utilizada. Así, los acetilacetonatos introducen en las nanopartículas más iones M^{z+} que los acetatos y éstos, a su vez, más que los nitratos.
- Aunque el proceso de incorporación de cationes metálicos a las **NPFT** y su posterior liberación en medio ácido parecen seguir un sencillo modelo de intercambio protón/ion metálico, las reacciones son en realidad más complejas y además no se recuperan los productos de partida.
- La incorporación de la n-octilamina (como modelo de proteína) a las **NPFT** se puede hacer por reacción directa y consiste en la protonacion de la amina y su retención por la formación de pares iónicos fosfato/octilamonio.
- La incorporación directa de la n-octilamina a las **NPFT** es inversamente proporcional al número de iones metálicos ya presentes en la nanopartícula de fosfato de titanio. Ambos, catión y amina son liberados en medio ácido.
- En el tratamiento de **NPFT-Cu-2** con un medio básico muestra que el NaOH reacciona con los protones ácidos. Además, el cobre es capaz de intercambiar el sodio del núcleo cristalino ($NaTi_2(PO_4)_3$), perdiendo este parte de su cristalinidad inicial.

5. Bibliografía

1. Jiehua, Liu Xiangfeng Wei, Yaolun Yu, Junling Song, Xing Wang, An Li, Xue-Wei Liu. "Uniform core-shell titanium phosphate nanospheres with orderly open nanopores: a highly active Brønsted acid catalyst". Chem. Commun., 46, (2010), 1670-1672.
2. Li-Na Feng, Juan Peng, Ying-Di Zhu, Li-Ping Jiang, Jun-Jie Zhu. "Synthesis of Cd2+-functionalized titanium phosphate nanoparticles and application as labels for electrochemical immunoassays". Chem. Commun., 48, (2012), 4474-4476.
3. Li-Na Feng, Zhi-Ping Bian, Juan Peng, Fang Jiang, Guo-Hai Jang, Ying-Di Zhu, Di Yang, Li-Ping Jiang, Jun-Jie Zhu. "Ultrasensitive Multianalyte Electrochemical Immunoassay Based on Metal Ion Functionalized Titanium Phosphate Nanospheres".
4. Fang-Fang Cheng, Ting-Ting He, Hai-Tiao Miao, Jiang-Jun Shi, Li-Ping Jiang, Jung-Jie Zhu. "Electron Transfer Medaited Electrochemical Biosensor for microRNAs Detection Base don Metal Ion Functionalized Titanium Phosphate Nanospheres at Attomole Level". ACS Appl. Mater. Interfaces., 7, (2015), 2979-2985.
5. Sharma, M.K., Narayanan J., Upadhyay, S., Goel, A.K. "Electrochemical Immunosensor Base don Bismuth Nanocomposite film and cadmium ions functionalized titanium phosphates for the detection of anthrax protective antigen toxin". Biosens. Bioelectron., 74, (2015), 299-304.
6. Daniel Martín Yerga, Tesis Doctoral, (2016).
7. Lin, R., Dding, Y. "A review on the synthesis and applications of mesostructured transition metal phosphates". Materials, 6, (2013), 217-243.
8. Murugavel, R., Choudhury, A., Walawalkar, M.G., Pothiraja, R., Rao, C.N.R. "Metal Phosphates: synthesis, structure, transformations and applications". Chem. Rev., 108, (2008), 3549-3655.
9. Abraham Clearfield, Deepak S. Thakur. "Zirconium and titanium phosphates as catalyststst:a review". Appl. Catal., 26, (1986), 1-26.
10. Saïd Sebti, Mohamed Zahonily, Hassan Bb. Lazrek, Jose Antonio Mayoral, Duncan J. Macquarrie. "Phosphates: New Generation of Liquid-Phase Heterogeneous Catalysts in Organic Chemistry". Curr. Org. Chem., 12, (2008), 203-232.
11. Patel, S.M., Chudasama, U. V., Ganeshpure, P.A. "J. Mol. Catal. A. Chem., 194, (2003), 267-271.
12. Parida, K.M., Sahu, B.B., Das, D.P.A. "A comparative study on textural characterization: cation-exchange and sorption properties of crystalline α-zirconium (IV), tin (IV), and titanium (IV) phosphate". J. Colloid. Interface. Sci., 270, (2004), 436-445.
13. Chugunov, A.S., Maslova, M.V., Gerasimova, L.G. "Performance properties of titanium phosphate ion exchanger utilized for comercial production in liquid radioactive waste treatment systems". Radiochemistry, 54, (2012), 549-557.

14. Jin, Y., Shen, Y., Hibino, T. “Proton conduction in metal pyrophosphates (MP_2O_7) at intermediate temperaturas” J. Mater. Chem., 20, (2010), 6214-6217.
15. Wu, Y., Wen, Z., Li, J. “Hierarchical carbón-coated $LiFePO_4$ nanoplate microsphares with high electrochemical performance for Li-ion batteries”. Adv. Mmater., 23, (2011), 1126-1129.
16. Ortiz, G.F., López, M.C., Lavela, P.,Vidal-Abarca, C., Tirado, J.L. “Improved lithium-ion transport in NASICON-type lithium titanium phosphate by calcium and iron doping”. Solid state ionics, 262, (2014), 573-577.
17. Sonal M. Patel, Uma V. Chudasama, Pralhad A. Ganeshpure. “Metal (IV) phosphate as solida cid catalyst for selective cyclodehydration of 1,n-diols” Green Chemistry, 3, (2001), 143-145.
18. Lisa F. Hodson, Robert A. W. Johnstone, Jun-Yao Liu, Ling Lu, David Whittaker. “Heterogeneous liquid phase catalysis by metal (IV) phosphates of cyclic ether fotmation and a reverse Prins reaction”. J. Mol. Catal. A. Chem., 152, (2000), 187-200.
19. Dutta, A., Ppatra, A. K., Dutta, S., Saha, B., Bhaumik, A. “Hierarchically porous titanium phosphate nanoparticles: an efficient solida cid catalyst for microwave assited conversión of biomass and carbohydrates into 5-hydroxy-methylfurfural”. J. Mater. Chem., 22, (2012), 14094.
20. Patel, S.M., Chudasan, U.V., Ganespure, P.A. “Cyclodehydration of 1,4-butanediol catalyzed by metal (IV) phosphates”. Kinet. Catal. Lett., 76, (2002), 317-325.
21. Liu, J., Zhang, J., Cheng, S., Liu, Z., Han, B. “DNA-mediated synthesis of microporous single-crystal-like $NaTi_2(PO_4)_3$ nanospheres”. Small, 4, (2008), 1976-1979.
22. Sahu, B.B., Mishra, H.K., Parida, K. “Cation Exchange and sorption properties of Tin (IV) phosphate”, J. Colloid Interface Sci., 248, (2002), 221-230.
23. Llavona, R., Suárez, M., García, J.R., Rodríguez,J. “Lamellar inorganic ion exchanger Li^+, Cs^+, H^+ ion Exchange in γ-Titanium phosphate” Inorg. Chem., 28, (1989), 2863-2868.
24. Bhaumik, A., Inagaki, S. “Mesoporous titanium phosphate molecular-sieves with ion-exchange capacity”. J. Am. Chem. Soc., 123, (2001), 691-696.
25. Wang, Q., Zhong, L., Sun, J., Shen,J. “A facile layer-by-layer adsorption and reaction method to the preparation of titanium phosphate ultrathin films”. Chem. Mater., 17, (2005), 3563-3569.
26. Jia, K., Bingcai Pan, Qingrui Zzhang, Weiming Zhang, Peijuan Kiang, Changhonh Hong, Bingjun Pan, Quanxing Zhang. “Adsorption of Pb^{2+}, Zn^{2+} and Cd^{2+} from waters by amorphous titanium phosphate”. J. Colloid. Interface Sci., 318, (2008), 160-166.
27. Jia, K., Bingcai Pan, Lu Lv, Qingrui Zhang, Xiaoshu Wang, Bingjung Pan, Weiminyg Zhang. “Impregnating titanium phosphate nanoparticles onto a porous cation exchanger for enhanced lead removal from waters”. J. Colloid. Interface. Sci., 331, (2009), 453-457.

28. Peng, J., Feng, L.N., Ren, Z.j., Jiang, L.P., Zhu, J.J. "Synthesis of silver nanoparticle-hollow titanium phosphate sphere hybrid as a label for ultrasensitice electrochemical detection of human interleukin-6". Small, 7, (2011), 2921-2928.
29. Ferragina, C., Di Rocco, R., Giannoccaro, P., Petrilli, L. "Titanium phosphate surfactants intercalation compounds: Thermal and structural characterization". Mater. Res. Bull., 42, (2007), 1422-1431.
30. Fe Menéndez, Aránzazu Espina, Camino Trobajo, Julio Rodríguez. "Iintercalation of n-alkylamines by lamellar materials of the α-zirconium phosphate type". Mater. Res. Bull., 25, (1990), 1531-1539.
31. Hogarth, W. H. J., Sean S.Muir, Andrew K. Whittaker, João C. Ddimiz da Costa, John Drennan, G.Q. (Max) Lu. "Proton conduction mechanism and the stability of sol-gel titanium phosphates" Solid state. Ionics, 177, (2007), 3389-3394.
32. Ren, T.Z., Yuan, Z.Y., Azioune, A., Pireaux, J.J., Su, B.L. "Tailoring the porous hierarchy of titanium phosphates" Langmuir, 22, (2006), 3886-3894.
33. Christensen, A. Nørlund, E. Krogh Andersen, I.G. Krogh Andersen, G. Alberti, M. Nielsen, M.S. Lehmann, "Diffraction study of layer compounds. The crystal structure of α-$Ti(HPO_4)_2.H_2O$ and a proposed structure for γ-$Ti(H_2PO_4)(PO_4)_2H_2O$". Acta. Chem. Scand., 44, (1990), 865-872.
34. Maslova, M.V., Rusanova, D., Naydenov, V., Antzutkin, O.N., Gerasimova, L.G. "Extended Study on the synthesis of amorphous titanium phosphates with tailored sorption properties". J. Non-Cryst. Solids, 358, (2012), 2943-2950.
35. Deborah J. Jones, G. Aptel, Markus Brandhorst, Mélanie Jacquin, José Jiménez-Jiménez, Antonio Jiménez-López, Pedro Maireles-Torres, Ireneusz Piwonski, Enrique Rodríguez-Castellón, Jenzy Zajac, Jacques Rozière. "High Surface área mesoporous titanium phosphate: synthesis and Surface acidity determination" J. Mater. Chem., 10, (2000), 1957-1963.
36. Bereznitsky Y., Jaroniec, M., Bortun, A., Poojary, D., Clearfield, A. "Surface and structural properties of novel titanium phsophate" J. Colloid Interface Sci., 191, (1997), 442-448.
37. Yin, Zhileig Yasuhiro, Sakamoto, Jihong Ju, Sixiu Sun, Oosamu Terasaki, Ruren Xu. "Microemulsion-based synthesis of titanium phsophate nanotubes via amine extraction system", J. Am. Chem. Soc., 126, (2004), 8882-8883.
38. Nedilko, S., Yu Hizhnyi, O. Chukova, P. Nagornyi, R. Bojko, V. Boyko. "Luminiscent monitoring of metal dititanium triphosphates as promising materials for radioactive waste confident". J. Nucl. Mater., 385, (2009), 479-484.
39. N. Anantharamulu, K. Koteswara Rao, G. Rambabu, B. Vijaya Kumar, Velchuri Radha. "A wide-ranging review on NASICON tyoe materails" J. Mater. Sci, 46, (2011), 2821-2837.
40. Liang Chen, Leyuan Zhang, Xufeng Zhou, Zhaoping Liu, "Aqueous batteries base don mixed monovalence metal ions: a new battery family". ChemSusChem, 7, (2014), 2295-2302.

41. Patoux, S., Masquelier, C. “Lithium insertion into titanium phosphate, silicates and sulfates” Chem. Mmater., 14, (2002), 5057-5068.
42. Park, S. I, Gocheva I. , Okada, S., Yamaki,J. “Properties of NaTi2(PO4)3 anode for recargable aqueous sodium-ion in batteries”. J. Electrochem Soc., 158, (2011), A1067-A1070.
43. Naohiro Hirose, Jun Kuwano. “Ion-exchange properties of NASICON-type phosphates with the frameworks [$Ti_2(PO_4)_3$] and [$Ti_{1,7}Al_{0,3}(PO_4)_3$]”. J. Mater Chem, 4, (1994), 9-12.
44. Tsuji, A., Takahashi, H., Oi, T. “Preparation of ion exchangers in the hydrogen form from $M_{1+x}Ti_2P_{3-x}Si_xO_{12}$ (M=Li, Na) crystals and glass-ceramics and their characterization” J. Mater. Chem., 13, (2003), 542-549.
45. Halil Güler, Figen Kurtulus. “A rapid synthesis of sodium titanium phosphate, $NaTi_2(PO_4)_3$ by using microwave energy”. Materials Chemistry and Physics, 99, (2006), 394-397.
46. C. Schumutz, P. Barboux, F. Ribot, F. Taulelle, M. Verdaguer, C. Fernández-Lorenzo.), “EXAFS, Raman and ^{31}P NMR study of amorphous titanium phosphates” Journal of Non-Crystalline Solids, 170 (3), (1994), 250-262.
47. Hirokazu Nakayama, Taro Eguchi, Nobuo Nakamura, Shunro Yamaguchi, Mayumi Danjyo, Mitsutomo Tsuhako, “Structural study of phosphate groups in layered metal phosphates by high-resolution solid-state ^{31}P NMR spectroscopy”. J. Mater. Chem., 7 (6), (1997), 1063-1066.
48. J.P. Dutasta, J.B. Robert, L. Wiesenfeld. “^{31}P Solid state NMR geometrical effects on the chemical shift tensor”. Chemical Physics Letters, 77 (2), (1981), 336-338.
49. Grimmer, A.R., “Phosphorus-31 NMR and π bond in solid phosphorus compounds“ Spectrochimica Acta Part A, 34A (9), (1978), 941.
50. D. J. MacLacklan, K.R. Morgan, “^{31}P Solid-State NMR studies of the structure of amine-intercalated α-Zirconium Phosphate reaction of α-zirconium phosphate with excess amine”. J.Phys. Chem, 94, (1990), 7656-7661.
51. Michael J. Hudson, Andrew D. Workman. “High-resolution solid-state ^{31}P and ^{119}Sn Magic-angle Spinning nuclear magnetic resonance studies of amoorphous and mcrocrystalline layered metal (IV) hydrogenphosphates”. J Mater Chem, 1(3), (1991), 375-379.

52. Hafida Benhamza, Philippe Barboux, Ahmed Bouhaouss, François-Andre Josien, Jacques Livage. “Solid-Gel Synthesis of $Zr(HPO_4)_2.H_2O$”. J. Mater Chem., 1(4), (1991), 681-684.
53. Yang Zhu, Koji Yoneda, Kazuyoshi Kanamori, Kazuyuki Ttakeda, Tsutomu Kiyomura, Hiroki Kurata, Kazuki Nakanishi. “Hierarchicalli porous titanium phosphate monoliths and their crystallization behavior in ethylene glycol”. New J. Chem. (2016), DOI: 10.1039/c5nj02820e.
54. Pier Luigi Stanghellini, Enrico Boccaleri, Eliano Diana, Giulio Alberti, Roccardo Vivani. “Vibrational Studi of some layered structures based on titanium and zirconium phosphates” Inorg. Chem., 43, (2004), 5698-5703.
55. Robert C. T. Slade, James A. Knowles, Deborah J. Jones, Jacqes Rozière. “The isomorphous acid salts α-$Zr(HPO_4)_2.H_2O$, α-$Ti(HPO_4)_2.H_2O$ and α-$Zr(HAsO_4)_2.H_2O$”. Solid State Ionics, 96, (1997), 9-19.
56. MacLachlan, Dugald J., Morgan, Keith R. “Phosphorous-31 solid-state NMR studies of the structure of amine-intercalated α-zirconium phosphate”. J. Phys. Chem., 96, (1992), 3458-3464.
57. Bruce O. Fowler, Milenko Markovic, Walter E. Brown. “Octacalciumphosphate. 3. Infrared and Raman Vibrational spectra”. Chem. Mater., 5, (1993), 1417-1422.
58. L. Tortet, J.R. Gavarri, G. Nihoul. “Study of protonic mobility in CaHPO4.2H2O (Brushite) and CaHPO4 (Monetite) by infrared spectroscopy and neutrón scattering”. Journal. of solid state chemistry, 132, (1997), 6-16.
59. S. K. A rora, T.R. Triedi, A. T. Oza, V.A.Patel. “IR Spectroscopy of barium hydrogen phosphate”. Acta Mater., 49, (2001), 2103-2107.
60. Miller, Foil A, Wilkins, Charles H. “Infrared spectra and characteristic frequencies of inorganic ions”. Anal Chem., 24, (1952), 1253-1294.
61. K. Rajendran, C. Dale Keefe. “Growth and characterization of calcium hydrogen phosphate dihydrate crystals from single diffusion gel technique”. Cryst. Res. Technol., 45 (9), (2001), 939-945.

62. Jimgwei Xu, Denis F. R. Gilson, Ian S. Butler. “FT-Raman and high-pressure FT-infrared spectroscopic investigation of monocalcium phosphate monohydrate, $Ca(H_2PO_4)_2.H_2O$”. Spectrochimica Acta Part A, 54 (12), (1998), 1869-1878.
63. Beulah J. M. Rajkumar, V. Ramakrishnan. “Vibrational spectroscopic study of DL-methionine dihydrogen phosphate”. Spectrochimica Acta Part A., 57, (2001), 247-254.
64. M. A. Salim, G.D. Khattak, M. Sakhamat Hhussain. “X-ray photoelectron spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy and electrical conductivity study studies of copper phosphate glasses”. J. Non Cryst Solids, 185, (1995), 101-108.
65. Xufeng Wu, Gaoquan Shi. “Fabrication of a lotus-like micro-nanoscale binary structured Surface and wettability modulation from superhydrophilic to superhydrophobic”. Nanotechnology, 16, (2005), 2056-2060.
66. G. T. Hermanson, “Bioconjugate Techniques”, ISBN 9780123705013.
67. Poojary, Damodora M., Bortun, Anatoly I., Bortun, Lyudmila N., Clearfield, Abraham. “Ssynthsis and X-ray poder structures of three novel titanium phosphate compounds”. Journal of Solid State Chemistry, 132 (1), (1997), 213-223.